



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA**

CARRERA DE BIOLOGÍA

**“Efecto de la inhalación de vanadio sobre la
expresión de CYP2E1 en un modelo murino
de carcinogénesis inducida por uretano”**

TESIS

**Que para obtener el título de:
BIÓLOGO**

Presenta:

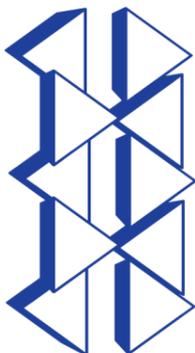
**JOSÉ ÁNGEL GUADALUPE SALGADO
HERNÁNDEZ**

Directora de tesis:

DRA. NELLY LÓPEZ VALDEZ

Asesores:

**DRA. LUCILA ÁLVAREZ BARRERA
DR. JUAN JOSÉ RODRÍGUEZ MERCADO**



**Laboratorio de Morfología y
Toxicología, Facultad de Medicina.
Ciudad de México, enero 2024.**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
 UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 CARRERA DE BIOLOGÍA
 FORMATO F-5



OFICIO DE FECHA DE EXAMEN

QFB GRACIELA ROJAS VÁZQUEZ
JEFA DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
 Presente

Le comunico que al alumno: SALGADO HERNANDEZ JOSE ANGEL GUADALUPE con número de cuenta 314339685 de la carrera **BIOLOGÍA** se le ha fijado el día 26 de Enero de 2024 a las 11:00 hrs., para presentar la réplica oral de su examen profesional, que tendrá lugar en esta facultad, ante el siguiente jurado:

CARGO	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE MTRA.	ALVARADO DOMINGUEZ MARIA CRISTINA	
VOCAL DRA.	LOPEZ VALDEZ NELLY	
SECRETARIO DRA.	ALVAREZ BARRERA LUCILA	
SUPLENTE DR.	RODRIGUEZ MERCADO JUAN JOSE	
SUPLENTE DR.	MATEOS NAVA RODRIGO ANIBAL	

El título del trabajo escrito que se presenta es:

"Efecto de la inhalación de vanadio sobre la expresión de CYP2E1 en un modelo murino de carcinogénesis inducida por uretano".

En la modalidad de: **TESIS**

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
 CDMX, a 23 de Noviembre de 2023

DR. VICENTE JESÚS HERNÁNDEZ ABAD
 DIRECTOR DE LA FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES ZARAGOZA

Agradecimientos

A la Dra. Teresa Imelda Fortoul Van der Goes, por brindarme la oportunidad de formar parte de su equipo de laboratorio, mostrar siempre interés en mi escrito y apoyarme con sus comentarios de retroalimentación en cada una de mis presentaciones.

A mi directora de tesis, la Dra. Nelly López Valdez en verdad estoy muy agradecido con usted. Muchas gracias por todo el apoyo, la dedicación y la motivación que me brinda a lo largo de esta investigación. No pude tener mejor asesora, le tengo un gran cariño, es un gran ser humano y una excelente investigadora, mi gran admiración hacia usted. ¡Lo logramos Dra.!

A mis asesores, la Dra. Lucila Álvarez Barrera y el Dr. Juan José Rodríguez Mercado, por transmitirme el amor hacia la toxicología efectuada por los metales. Muchas gracias por sus valiosas opiniones y comentarios empleados en el presente trabajo, los admiro mucho a ambos.

A mis sinodales, el Dr. Rodrigo Aníbal Mateos Nava y la Mtra. María Cristina Alvarado Domínguez, por sus sugerencias y constructivos comentarios en la revisión de este estudio.

Al Biól. Francisco Pasos Nájera y al Biól. Armando Zepeda Rodríguez, del Departamento de Biología Celular y Tisular, Facultad de medicina, UNAM, por su apoyo y tiempo brindado en la obtención y el procesamiento de las imágenes, tienen ambos una gran calidez humana.

A la Téc. Brenda Medina Rodríguez Técnica Histotecnóloga del Laboratorio de Técnica Histológica del Departamento de Biología Celular y Tisular de la Facultad de Medicina, UNAM, por la ayuda en el procesamiento histológico.

A todas las Dras. del Laboratorio de Morfología y Toxicología (Adri, Maru, Bren, Marce y Paty) muchas gracias por siempre apoyarme y darme palabras de aliento en todo momento, se les quiere.

A mis amigas del laboratorio la Biól. Lupita y la Biól. Shamir, les agradezco por todas las buenas vibras y el apoyo que siempre me brindaron, las quiero mucho y les deseo a ambas todo el éxito en su vida profesional.

Dedicatorias

Primero que nada, quiero agradecer a Dios por permitirme estar vivo y llegar a esta etapa de mi vida, gracias por nunca dejarme solo en todos los obstáculos que he atravesado.

A mis padres Hilda Hernández Godoy y Noé Salgado Sandoval, esto es por y para ustedes con todo mi amor, nunca podré pagarles por todo el cariño, amor, paciencia y sacrificios que sé que ambos han hecho para que yo cumpla mis sueños. Les prometo pronto recompensarles por todo lo que me han brindado, los amo mucho, son y serán mi pilar más importante siempre.

A mi hermano Joshua, eres mi adoración y esto también es para ti mi precioso, siempre estaré para ti, te voy a cuidar y apoyar siempre. Te amo muchísimo mi pequeño berrinchudo.

A mi abuelita Lucy, no tengo palabras, usted sabe que la considero una segunda madre, muchísimas gracias por siempre apoyarme y amarme tanto. No tiene idea del gran cariño que le tengo, es mi más grande amor. Lo logré abuelita, se lo prometí y agradezco a Dios por permitirnos a ambos estar con vida para compartir este momento juntos.

A mi tía Irma, muchas gracias por siempre estar al pendiente de mí y de mi trabajo, la quiero mucho. Le agradezco mucho por los buenos deseos.

A mis tíos Ruth, Imelda, Alma, Carmen, Isabel, Iván, Isaías, José Luis y Alfredo, ustedes saben cuánto los adoro y les agradezco por quererme tanto.

A mis primos que tanto amo Jessy, Karen, Yare, Ilse, Pao, Neto, Xime, Gael, Oscar y Mario, de todo corazón gracias por todas las vivencias que hemos compartido juntos y por el apoyo que cada uno me ha brindado.

A mi mejor amiga de la vida Ingrid, te debo tanto, eres un excelente ser humano y te agradezco por seguir acompañándome en cada pasito que doy, te amo mucho.

A mi mejor amigo Gustavo, eres una gran persona, te tengo un cariño muy grande, muchas gracias por todos los momentos que hemos compartido juntos.

A mi mejor amiga de la preparatoria Ahideé, muchas gracias por seguir presente en mi vida y apoyarme en todo momento, te adoro.

A mi gran amiga Ale, me has apoyado en los momentos más grises de mi vida, siempre estaré agradecido contigo, te estimo mucho.

A mis amigos de la facultad Kas, Andy, Alek y Ariadna, muchas gracias por todos los momentos compartidos, las risas, los emotivos momentos que cada uno me brindo y por el apoyo que me compartieron a lo largo de la carrera, guardo con mucho cariño su amistad. Les deseo gran éxito en todas sus metas, los querré siempre.

A mis amigos del trabajo Mar, Will, Abraham, Gus, Romi, Luz, Sol, Randú, Miguel, Yao, Leo, Fer, Lupita, Bren y Viri, muchas gracias por su amistad y apoyo, se les quiere mucho.

A mi amigo Ulises, te agradezco por ayudarme a crecer tanto académicamente como persona, guardo con mucho cariño todos los momentos vividos, eres una persona muy importante para mí y te deseo mucha felicidad porque sé que ambos hemos luchado mucho por cumplir nuestras metas.

A mis perritos Archie, Keyla y Kira por acompañarme en cada día de desvelo, los amo con todo mi corazón.

“Antes pensábamos que nuestro futuro estaba en las estrellas. Ahora sabemos que está en nuestros genes.” James Watson.

Índice

<i>Tabla de abreviaturas</i>	8
1. <i>Resumen</i>	9
2. <i>Introducción</i>	10
2.1 <i>La contaminación atmosférica</i>	10
2.2 <i>Partículas suspendidas</i>	10
2.3 <i>Generalidades del vanadio</i>	11
2.4 <i>Producción y usos del vanadio</i>	12
2.5 <i>Exposición al vanadio y toxicocinética</i>	13
2.6 <i>Efectos generales del vanadio</i>	15
2.6.1 <i>Efecto pro y anticarcinogénico</i>	16
2.6.2 <i>Efectos en el metabolismo</i>	17
2.7 <i>Modificación de enzimas CYP450 por vanadio</i>	17
2.8 <i>Potencial anticarcinógeno del vanadio</i>	19
2.9 <i>Modelo de carcinogénesis inducida por uretano</i>	24
2.10 <i>Principales órganos blanco del uretano</i>	27
2.10.1 <i>El hígado</i>	27
2.10.2 <i>El pulmón</i>	29
3. <i>Justificación</i>	32
4. <i>Hipótesis</i>	32
5. <i>Objetivos</i>	32
5.1 <i>Objetivo general</i>	32
5.2 <i>Objetivos particulares</i>	32
6. <i>Material y método</i>	33
6.1 <i>Animales y tratamientos</i>	33
6.2 <i>Protocolo experimental</i>	36
6.3 <i>Eutanasia y extracción de los órganos</i>	37
6.4 <i>Inmunohistoquímica</i>	37
6.5 <i>Análisis estadístico</i>	39

7. Resultados	39
7.1 Hígado	39
7.1.1 Morfología del hígado	39
7.1.2 Inmunohistoquímica	40
7.1.3 Análisis de densitometría	42
7.2 Pulmón	43
7.2.1 Morfología del pulmón	43
7.2.2 Inmunohistoquímica	44
7.2.3 Análisis de densitometría	46
8. Discusión	47
9. Conclusiones	53
10. Perspectivas	54
11. Literatura citada	55
12. Anexos	72

Tabla de abreviaturas

<i>Abreviatura</i>	<i>Nombre completo</i>
CC16	Proteína de célula club 16 kDa
CYP450	Citocromo P450
CYP2E1	Citocromo 2E1
CAT	Catalasa
CEt	Carbamato de etilo
GSH	L-g-glutamil-L-cisteinilglicina (Glutati3n reducido)
NH ₄ VO ₃	Metavanadato de amonio
PM	Material particulado
PS	Partículas suspendidas
V	Vanadio
V ₂ O ₅	Pent3xido de vanadio
ERO	Especies reactivas de oxígeno
SOD	Super3xido Dismutasa

1. Resumen

El vanadio es un metal de transición abundante en el petróleo y la gasolina mexicanos, que se libera a la atmósfera principalmente como pentóxido de vanadio (V_2O_5). Por muchos años se han estudiado los efectos que tiene en distintos modelos, sobresaliendo su relación con los procesos de anticarcinogénesis.

Actualmente en lo que respecta a su potencial anticarcinógeno se ha observado que el vanadio logra modular la actividad de las enzimas CYP450, lo que puede transformar la toxicidad de algunos carcinógenos disminuyendo la frecuencia de tumores de diversos tipos de cáncer como el mamario y hepático en modelos *in vivo* e *in vitro*. Por tal motivo, el objetivo de este trabajo fue identificar el efecto de la inhalación de vanadio en la expresión hepática y pulmonar del CYP2E1 en un modelo de carcinogénesis pulmonar inducida por uretano.

Se utilizaron 30 ratones macho CD-1 con un rango de peso de 30 a 35 g, los cuales se dividieron en seis grupos: Control, Vanadio, Uretano 24 h, Vanadio/Uretano 24 h, Uretano 96 h, Uretano 96 h/Vanadio. Los grupos con vanadio inhalaron una concentración de 1.26 mg/m^3 del metal 1 h dos veces por semana, mientras que a los de uretano se les aplicó una inyección intraperitoneal (ip) de 1 mg/g del compuesto; a los grupos combinados se les administraron ambos, aunque en distintos tiempos. A la semana de tratamiento, se llevó a cabo la eutanasia con pentobarbital sódico (180 mg/kg de peso vivo), por disección se obtuvieron el hígado y los pulmones, se realizó la inmunohistoquímica de CYP2E1 en ambos órganos, para posteriormente analizar la marca por densitometría.

Los resultados mostraron que en hígado los niveles de expresión del CYP2E1 incrementa con la exposición a vanadio en comparación con el pulmón, donde los niveles de esta enzima únicamente aumentaron en el grupo Uretano 96h/Vanadio. En cuanto a los grupos combinados en pulmón se presentó variación del citocromo, lo que indica que el tiempo en el que se administra cada compuesto hace la diferencia en la actividad enzimática del CYP2E1. Finalmente, los resultados del presente estudio demuestran que el vanadio modifica la expresión de CYP2E1 encargado de la bioactivación del uretano, lo que podría contribuir a su papel como un agente antineoplásico.

2. Introducción

2.1 La contaminación atmosférica

Actualmente los problemas de contaminación ambiental van en aumento en diversas zonas del país. Tal es el caso del Valle de México, Guadalajara, Monterrey, Toluca y Ciudad Juárez, entre otras; esto debido a la gran cantidad de industrias y automóviles, con el consecuente consumo de combustibles fósiles y la alta urbanización, que provocan la contaminación del aire (Garzón et al., 2015).

La contaminación del aire hace referencia a la presencia de cualquier materia o energía presente en la atmósfera que pueda causar desequilibrio en la misma (Yang y Omaye, 2009). Concurren diferentes tipos de contaminantes atmosféricos, que, de acuerdo con su origen pueden ser naturales o antropogénicos. Los contaminantes naturales provienen de eventos como erupciones volcánicas, incendios forestales, erosión de suelos y toda clase de procesos en los que el hombre no tiene intervención. Por su parte, los contaminantes antropogénicos se originan directamente por actividades realizadas por el hombre (Molina et al., 2019).

En el aire, los contaminantes son variados, entre los que encontramos monóxido de carbono, dióxido de carbono, compuestos de nitrógeno, hidrocarburos, compuestos de azufre, cenizas y **partículas suspendidas (PS)**, entre otros (Secretaría del Medio Ambiente, 2011; Pérez et al., 2010).

De todos estos contaminantes, las partículas suspendidas en el aire son de relevancia debido a que entran al organismo principalmente a través de la respiración y son capaces de producir efectos perjudiciales en la salud.

2.2 Partículas suspendidas

Las PS forman una mezcla compleja de materiales sólidos y líquidos, que pueden variar significativamente en tamaño, forma y composición, dependiendo fundamentalmente de su origen, el cual puede ser natural o antropogénico. Las partículas que provienen de fuentes antropogénicas como la combustión y los procesos industriales son las que presentan la menor masa, y las que provocan los efectos adversos en los organismos

(Molina et al., 2019). En cuanto a su tamaño, las partículas menores de $10\ \mu\text{m}$ (PM10) son las que tienen la facilidad de penetrar al sistema respiratorio (Jiménez-Cisneros, 2001), provocando daños en la región alveolar de los pulmones. Las partículas suspendidas se componen de una fracción inorgánica que contiene hidrocarburos aromáticos, nitritos, sulfatos, fierro, plomo, y de manera importante, metales de transición como cromo (Cr), cobalto (Co), cobre (Cu), manganeso (Mn), níquel (Ni), **vanadio** (V) y zinc (Zn), entre otros componentes. Por otro lado, la fracción orgánica corresponde esencialmente a un núcleo de carbón al que se adosan los elementos inorgánicos (Sorensen et al., 2005).

La exposición por inhalación a partículas y sus componentes es de especial importancia en las regiones altamente industrializadas y en donde hay gran densidad de tráfico automotriz, dado que los combustibles fósiles se componen de mezclas de compuestos de carbón y metales (USEPA, 2004; Rodríguez-Salazar et al., 2011). Las partículas que proceden de la quema de combustibles fósiles como el petróleo y gasolina contienen de manera abundante metales de transición. De estos metales, destaca el vanadio debido a que este metal abunda en el petróleo y en la gasolina de nuestro país, liberándose a la atmósfera principalmente en forma de **pentóxido de vanadio**, V_2O_5 (Rodríguez-Salazar et al., 2011).

Se ha estimado que se liberan alrededor de 65 000 toneladas de vanadio al ambiente por procesos naturales, como erupciones volcánicas y erosión de suelos, mientras que las fuentes antropogénicas añaden cerca de 200 000 toneladas por año (Roberts, et al., 2016).

2.3 Generalidades del vanadio

El V es un elemento de transición perteneciente al grupo 5B de la tabla periódica, con múltiples estados de oxidación que van desde -3 hasta +5 (Roberts, et al., 2016). La forma más común de encontrar a este metal en la naturaleza es en el estado pentavalente y se ha descrito, que la toxicidad del V incrementa conforme aumenta el estado de oxidación, por lo que se considera al V_2O_5 uno de los compuestos más tóxicos, de este metal (Moskalyk y Alfantazi, 2003).

En la naturaleza, el V no se encuentra en forma pura dado que tiende a reaccionar con otros elementos y se encuentra formando parte de diferentes minerales como la

carnotita, patronita y vanadinita (Grayson 1983; ATSDR, 1997). Además de ser un componente de rocas ricas en azufre y encontrarse en depósitos de petróleo crudo (ATSDR, 1997). Por otro lado, se encuentra también en pequeñas cantidades en ciertos alimentos como la pimienta negra, algunos hongos, espinacas y en mariscos (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006).

2.4 Producción y usos del vanadio

El V es un metal muy importante para la industria automotriz, debido a que las aleaciones con hierro (Fe) confieren dureza, resistencia y maleabilidad a los aceros. Es utilizado en la fabricación de aleaciones de alta resistencia y baja corrosión, forma amalgamas principalmente con aluminio (Al), titanio (Ti), boro (B), Cr, Ni y Mn (Scior y Guevara 2014). Es importante en la fabricación de maquinaria aérea y tecnología espacial (Mateos-Nava, 2012).

Otro de sus usos es en la industria química, donde se utiliza como catalizador en la obtención del ácido sulfúrico, en la fabricación de caucho sintético y para fabricar pinturas; ya que las sales de este metal ofrecen una gran gama de colores dependiendo de su estado de oxidación, proporcionando colores verdosos, rojos, amarillos, dorados como el bronce o negros (Guevara-García y Scior, 2014).

Por otra parte, en los últimos años el V se ha convertido en un elemento de interés farmacológico y nutricional, por lo que diversas investigaciones se han enfocado en utilizarlo en el tratamiento de la diabetes, como antineoplásico, para aumentar el rendimiento físico en atletas y como anticonceptivo vaginal (Aragón et al., 2005; Thompson et al., 2009; Guevara-García y Scior, 2014).

Uno de los usos terapéuticos más relevantes del V es como anticarcinógeno, puesto que para distintos compuestos de V se ha observado su posible papel en la inhibición y disminución del desarrollo de cáncer en modelos *in vitro* e *in vivo* (Rehder, 2003; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006; Bishayee et al., 2010).

2.5 Exposición al vanadio y toxicocinética

La presencia de V en la atmósfera es el resultado de la quema de combustibles fósiles y las principales rutas de exposición a este metal para la población general son la vía oral y la aérea; mientras que, ocupacionalmente los trabajadores se exponen a polvos y humos que se producen en la combustión de petróleo, carbón y aceites a través de la vía aérea (Barceloux y Barceloux, 1999). La absorción de V depende de la ruta de administración y de la solubilidad del compuesto. La principal ruta de absorción de este metal es a través de la vía aérea (25 %), mientras que la vía oral (5-10 %) ocupa un lugar secundario. La piel es la menor ruta de exposición y absorción, **Figura 1** (Rodríguez Mercado y Altamirano-Lozano, 2006; Imtiaz et al., 2015).

Una vez que el V ha entrado en el organismo, es dirigido a los tejidos a través del torrente sanguíneo. En el torrente sanguíneo el 90 % del V que es absorbido se une a proteínas tales como la albúmina y la transferrina. Los complejos de V se transforman, a través de reacciones de óxido-reducción, en iones vanadil o vanadato dentro de los tejidos y ambas formas (catiónica y aniónica, respectivamente) son distribuidas en el organismo acumulándose en hueso, pulmones, riñones, bazo e hígado (Barceloux y Barceloux, 1999; Goc, 2006).

El V^{5+} , como se encuentra en el V_2O_5 , es reducido a V^{4+} por el glutatión de los eritrocitos, o por el ácido ascórbico, las catecolaminas y otras sustancias reductoras del plasma (Redher, 2003). Se tiene bien establecido que los vanadatos (V^{5+}) entran a la célula por mecanismos de transporte aniónico, principalmente por los canales de fosfato (Davidson et al., 2007).

La mayor parte del V es eliminada a través de la orina y las heces en dos fases (eliminación bifásica) dentro de los primeros tres días de absorción. La primera fase de eliminación corresponde a una fase rápida inicial, que es seguida de una más prolongada dentro de los 40-50 días siguientes (Goc, 2006; Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006). Algunos reportes indican que algunos órganos tardan en remover el V y por lo tanto permanece más tiempo en ellos, prolongando los posibles efectos tóxicos que produce. Estos órganos son el hueso, los músculos y los pulmones (Elinder et al., 1988; French y Jones, 1993).

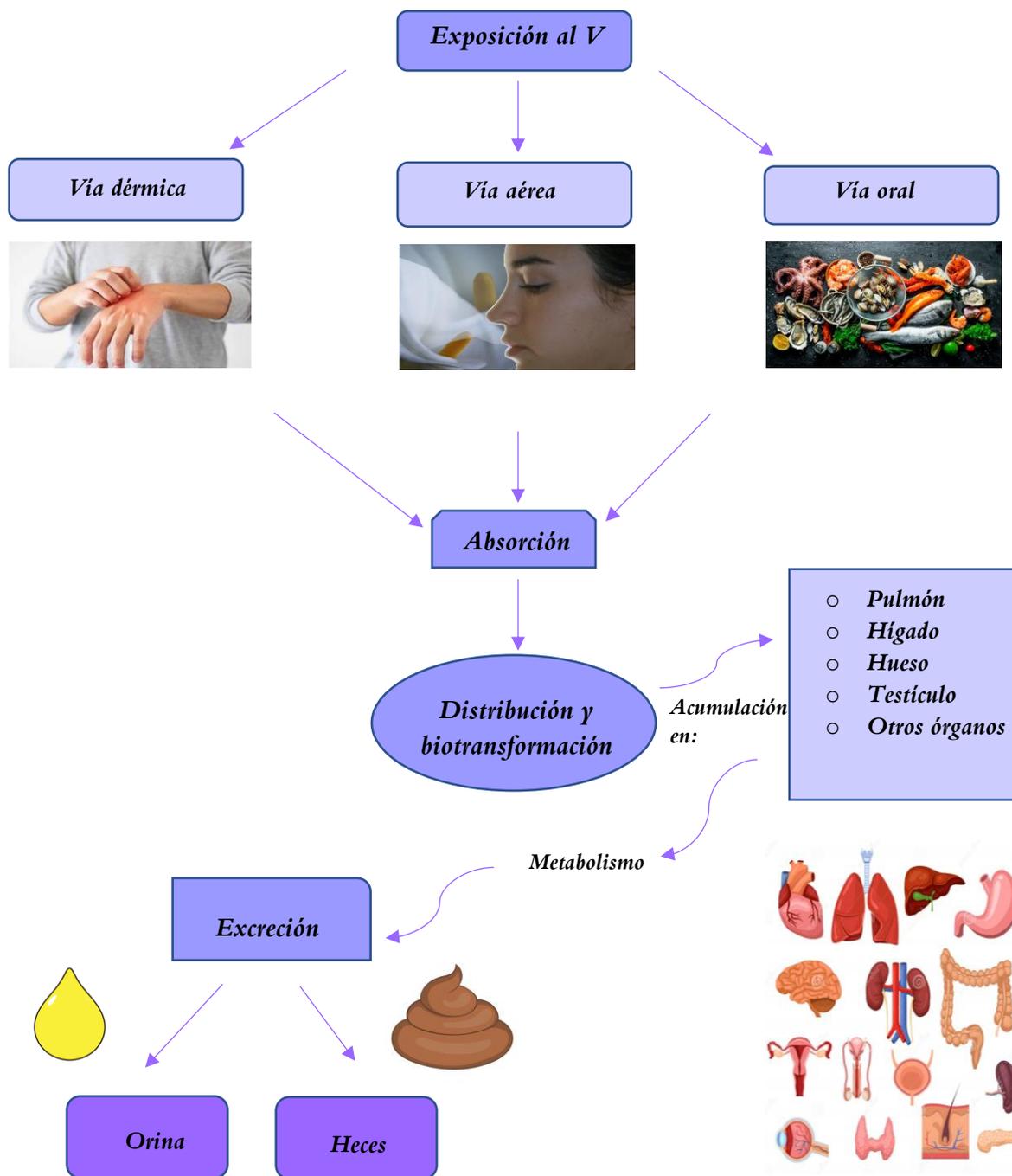


Figura 1. Toxicocinética del vanadio. La inhalación es la principal ruta de exposición a este metal, el cual ingresa al sistema respiratorio por medio de las PS. Modificado de Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006.

2.6 Efectos generales del vanadio

Para la población en general y los trabajadores de las industrias, la vía aérea constituye la principal ruta de exposición y absorción de V, sobre todo de V_2O_5 que se encuentra adherido a las partículas teniendo como resultado diversos efectos en el organismo (Rodríguez-Mercado y Altamirano-Lozano, 2006; Fortoul et al., 2011).

Las personas laboralmente expuestas a V_2O_5 presentan cambios en el sistema respiratorio como irritación del tracto respiratorio, tos, conjuntivitis, dermatitis, congestión pulmonar, daño al epitelio alveolar, bronquitis, rinitis, faringitis, coloración verde en la lengua e inflamación de la mucosa nasal (Shi et. al., 1996; Altamirano-Lozano et. al., 2014; Zwolak 2016).

Por otro lado, se han realizado diversos estudios para investigar los efectos que tiene la inhalación de V_2O_5 en modelos murinos *in vivo* donde se ha encontrado que efectúa diversas alteraciones en cada uno de los sistemas del organismo, mismas que se describen a continuación:

Sistema respiratorio. En un modelo de tolerancia a la inhalación de V_2O_5 en dos concentraciones (en la primera fase, 1.56 mg/m^3 , y en la segunda fase, 2.57 mg/m^3) aplicada a ratones hembra y macho de la cepa CD-1, se encontró que produce descamación de células bronquiales no ciliadas, hiperplasia epitelial bronquiolar, pequeños focos inflamatorios y alteración en la expresión de la proteína CC16. Estos cambios ocurrieron en ambas fases, pero con menor intensidad en la segunda fase (López-Valdez et al., 2019).

Sistema inmunitario. El V_2O_5 induce lesiones macroscópicas en el bazo, lo que ocasiona alteraciones histológicas y funcionales en ratones (González-Villalva et al., 2006). También, cambios en la relación corteza-médula en el timo de ratones expuestos, afectando el proceso de maduración de linfocitos T (Fortoul., 2011).

Sistema nervioso. Los resultados obtenidos con el modelo de inhalación muestran que el V_2O_5 ocasiona alteraciones citológicas, ultraestructurales y funcionales en diferentes estructuras del sistema nervioso central. En ratones expuestos, al V_2O_5 disminuye las espinas dendríticas en las células granulares,

además de inducir la muerte celular apoptótica y necrótica de estas neuronas (Fortoul et al., 2007; Colín- Barenque et al., 2015).

Sistema urinario. En lo que respecta al sistema excretor, el V afecta principalmente a los riñones, aumentando su tamaño e inflamación en la corteza en el modelo de inhalación de 6 semanas a ratones (Rojas-Lemus et al., 2021).

Sistema reproductor masculino y femenino. El efecto reprotóxico del V ha sido reportado en modelos murinos, tanto en machos como en hembras (Fortoul et al., 2011).

a) Machos: La inhalación del V causa necrosis de espermatogonias, espermatoцитos y células de Sertoli en ratones (Fortoul., 2007). También alteraciones en la ultraestructura de las células testiculares, como inclusiones en células germinales y de Sertoli (Aragón et al., 2005).

b) Hembras: En cuanto a las alteraciones histológicas se ha evidenciado la disminución del diámetro de los folículos secundarios y preovulatorios en el ovario y la disminución del grosor del miometrio y estroma uterino en las ratonas hembras CD-1 expuestas (Meléndez-García et al., 2019).

Sistema digestivo. La inhalación de V afecta al hígado induciendo la formación de hepatocitos binucleados y trinucleados (Cano-Gutiérrez et al., 2012).

2.6.1 Efecto pro y anticarcinogénico

En lo que respecta a su relación con la carcinogénesis, se ha encontrado que el V_2O_5 puede inducir el desarrollo del cáncer, por lo que la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer lo ha designado como posible carcinógeno para los seres humanos (IARC, 2006) con base en estudios realizados en ratones en los que se encontró que la exposición a este compuesto produce cáncer de pulmón (Ress et al., 2007). En otro estudio, en el cual se evaluó el papel del V como promotor de neoplasia pulmonar en ratones con distinta susceptibilidad al efecto de carcinógenos químicos, se observó que este metal puede actuar promoviendo el desarrollo de tumores pulmonares dependiendo de la susceptibilidad genética de la cepa de ratón a utilizar (Rondini et al., 2010).

En contraparte, existe evidencia robusta al respecto de los efectos antineoplásicos del V. La primera evidencia se demostró en un estudio de carcinogénesis mamaria inducida por 1-metil-1-nitrosurea en ratas hembra Sprague–Dewley, en las que se observó la reducción en la incidencia de tumores mamarios producida por vanadil sulfato, VO_2SO_4 (Thompson et al., 1984). En otra investigación realizada con ratas macho Sprague–Dewley en un modelo de carcinogénesis de hígado inducida por dietilnitrosamina, se reportó la supresión de la hiperplasia nodular hepática causada por **metavanadato de amonio**, NH_4VO_3 (Chakraborty et al., 2007).

2.6.2 Efectos en el metabolismo

En cuanto a sus efectos en el metabolismo el V ocasiona interferencia con la biosíntesis de cistina y colesterol, estimulación de la síntesis de fosfolípidos y, en concentraciones más altas, inhibición de la oxidación de la serotonina (Nordberg et al., 2007). También se ha demostrado que inhibe algunas ATPasas, las fosfatasas y varios otros sistemas enzimáticos, como la modificación de las enzimas CYP450 (Abdelhamid et al., 2013; Ferreti y León, 2022).

El efecto sobre el metabolismo puede producir distintas alteraciones en las células, y actualmente la modificación de las enzimas CYP450 se ha relacionado con el papel anticarcinogénico del V como se explicará más adelante, aunque ha sido poco estudiado.

2.7 Modificación de enzimas CYP450 por vanadio

El **citocromo P450** (CYP-450) pertenece a la familia de hemoproteínas presentes desde bacterias hasta mamíferos y de las que se han identificado más de 2000 isoformas (Jaimes-Santoyo et al., 2014).

Se ha descrito que tienen una localización en las membranas del retículo endoplásmico liso de las células. Las isoformas de CYP-450 están distribuidas en 866 familias, de las cuales 2740 se encuentran en animales y 2675 en plantas (Jaimes-Santoyo et al., 2014).

Son las enzimas responsables del metabolismo de varios tipos de xenobióticos (fármacos, pesticidas, esteroides y alcaloides) y de la degradación de sustancias producidas por el propio organismo conocidos como endobióticos; esteroides, sales

biliares, vitaminas liposolubles A y D, alcaloides endógenos, entre otros (Jaimes-Santoyo et al., 2014).

Los CYP450 de las familias 1 y 2 de todos los organismos participan en la detoxificación o en la activación de xenobióticos. Contribuyen en los procesos de carcinogénesis, son determinantes en el metabolismo, tolerancia, selectividad y compatibilidad de drogas y pesticidas. Dentro de este grupo destacan los CYP1A1, CYP2B, CYP2E1 Y CYP2F2, mismos que se encuentran en diferentes órganos como el riñón, pulmón, testículos, placenta e hígado (Jaimes-Santoyo et al., 2014).

En diversos estudios se ha observado el potencial del V para modular las actividades de las enzimas CYP450, lo cual está ligado y tiene como efecto modificar la toxicidad de algunos carcinógenos, siendo este punto de relevancia puesto que en modelos *in vitro* e *in vivo* se ha corroborado que esta modificación tiene un efecto en la disminución de tumores de diversos tipos de cáncer, contribuyendo al efecto anticarcinógeno del V.

La modificación de estas enzimas por V ha sido reportada en distintos modelos, donde se ha observado que un aumento de CYP450 dada por compuestos de este metal está estrechamente relacionada con su potencial antineoplásico (Bishaye et al., 2000). Por otro lado, en el estudio *in vitro* de Abdelhamid y colaboradores encontraron que el V ejerce efectos protectores contra la carcinogénesis inducida por sustancias químicas principalmente la modificación de enzimas metabolizadoras de xenobióticos como lo son los citocromos CYP450, por lo que es un tema de relevancia (Abdelhamid et al., 2013).

2.8 Potencial anticarcinógeno del vanadio

El V ha cobrado importancia desde hace varias décadas, dado que se ha identificado que puede ejercer un efecto anticarcinógeno en el desarrollo de distintos tipos de cáncer. Los estudios *in vitro* abrieron la posibilidad de realizar estudios *in vivo*, que constituyen una herramienta poderosa en el conocimiento, dado que es posible estudiar los efectos de los compuestos en el organismo completo. Estos reportes incluyen modelos animales de carcinogénesis de mama, de pulmón, de hígado, de colon y de tejido conectivo (Bishayee et al., 2010).

Por otro lado, en cuanto a la relación del efecto anticarcinógeno que posee el V y la modificación de las enzimas CYP450, esta ha sido muy poco estudiada en modelos murinos por lo que se requieren de más investigaciones que sirvan de evidencia para validar esta cuestión.

En la ***Tabla 1*** se citan tres estudios en los que se observó el efecto del V sobre los CYP450 en distintos modelos. Esta modificación se ha relacionado con el efecto anticarcinogénico de este metal.

Tabla 1. Estudios *in vitro* e *in vivo* en los que se demuestra la modificación de CYP450 producida por distintos compuestos de vanadio en diferentes modelos.

Modelo	Compuesto de V (fórmula química)	Dosis o concentración	Vía de exposición o medio celular	Especie o células	Efecto	Referencia
Carcinogénesis mamaria en rata inducida por DMBA.	Metavanadato de amonio (NH_4VO_3).	0.5 ppm.	Oral: agua de beber.	Ratas hembra Sprague-Dawley.	Incremento de la expresión de CYP450 y reducción del tamaño de los tumores mamarios.	Bishaye et al., 2000.
Carcinogénesis de colón en rata inducida por DMH.	Metavanadato de amonio (NH_4VO_3).	0.5 ppm.	Oral: agua de beber.	Ratas macho Sprague-Dawley.	Aumento de la actividad hepática de CYP450 y estimulación de apoptosis de las células cancerígenas.	Kanna et al., 2003.
Cultivo de células HepG2 de hepatoma humano.	Metavanadato de amonio (NH_4VO_3).	25–1000 Mm.	Medio sin suero.	Células HepG2 de hepatoma humano.	Disminución de la expresión de CYP1A1 en células humanas HepG2.	Abdelhamid et al., 2013.

DMBA, Dimetilbenzantraceno; DMH, Dimetilhidrazina; Células HepG2, Línea celular de hepatoma humano (Human hepatocelular carcinoma) ; CYP1A1, Citocromo 1A1.

Además de los efectos en los CYP450 se ha reportado que el V en modelos murinos de carcinogénesis suprime el crecimiento y la diseminación de tumores al **i)** inhibir la proliferación de células tumorales e inducir la apoptosis, y **ii)** limitar la invasión y el potencial metastásico de las células neoplásicas (Kioseoglou et al., 2015; Kowalski y Inkielewicz-Stępnia, 2020). Estos mecanismos mencionados tienen relación con los efectos anticarcinógenos de este compuesto como se muestra en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Estudios *in vitro* e *in vivo* en los que se demuestra el potencial anticarcinogénico de distintos compuestos de vanadio en diferentes modelos de carcinogénesis.

Modelo	Compuesto de V (fórmula química)	Dosis o concentración	Vía de exposición o medio celular	Especie o células	Efecto	Referencia
Carcinogénesis de colón de rata inducida por DMH.	Metavanadato de amonio (NH_4VO_3).	0.5 ppm.	Oral (agua de beber).	Ratas macho Sprague-Dawley.	Disminución en los niveles de metilación del DNA, y reducción del desarrollo de focos preneoplásicos y tumores en el colón producidos por DMH. Supresión del supresor tumoral p53 y disminución de la proteína antiapoptótica BCL-2.	Samanta et al., 2008.
Carcinogénesis mamaria de rata inducida por DMBA.	Metavanadato de amonio (NH_4VO_3).	0.5 ppm.	Oral (agua de beber).	Ratas hembra Sprague-Dawley.	Disminución del número de tumores mamarios producidos por DMBA. Supresión del crecimiento tumoral; reducción de la proliferación celular e inducción de apoptosis de las células malignas.	Manna, et al., 2011.

Cultivo celular de adenocarcinoma ductal pancreático humano.	Sulfato de vanadilo $VOSO_4$.	25 mM y 50 mM.	Medio sin suero.	Células de adenocarcinoma ductal pancreático humano.	Inhibición en la autofagia y detención del ciclo celular. Aumento en el nivel de ERO. Apoptosis y necrosis de las células tumorales.	Kowalski et al., 2017.
Cultivo de células de melanoma maligno humano.	Ión inorgánico vanadato (V^{5+}) y tres complejos de óxido vanadio(IV), $[V^{4+}]$.	2.5 mM.	Medio de cultivo RPMI.	Células de melanoma maligno humano.	Inhibición <i>in vitro</i> del crecimiento tumoral en líneas celulares de melanoma maligno. Apoptosis y bloqueo del ciclo celular de las células carcinógenas.	Rozzo et al., 2017.
Adenomas pulmonares inducidos por uretano en ratón.	Pentóxido de vanadio (V_2O_5).	1.56 mg/m ³	Inhalada.	Ratones CD-1.	Disminución del número y tamaño de los adenomas pulmonares inducidos con uretano. Inducción de apoptosis de las células tumorales e incremento de la expresión de proteínas relacionada con la muerte celular de los adenomas.	López-Valdez, 2021.

Cultivo de células de cáncer de pulmón humano.	Nanopartículas de vanadio (VO_2).	0.02 M.	Medio de cultivo en DMEM.	Células de adenocarcinoma de mama humano.	Reducción de la viabilidad de la línea de las células carcinógenas. Aumento en la apoptosis de las células cancerosas.	Liu et al., 2023.
ERO, Especies Reactivas de Oxígeno; DMEM, Medio Eagle Modificado Dulbecco; DMBA, Dimetilbenzantraceno; Medio RPMI, Roswell Park Memorial Institute.						

En los trabajos reportados por diferentes autores se ha estudiado con mayor énfasis al metavanadato amonio (NH_4VO_3), mientras que otros compuestos como el V_2O_5 han sido explorados escasamente en modelos de carcinogénesis, debido principalmente a la relación que se ha encontrado entre la exposición a este compuesto con el desarrollo de la carcinogénesis. En relación con este punto, López-Valdez en el 2021 evaluó la participación del V_2O_5 en un modelo de adenomas pulmonares inducidos por uretano, y encontró la disminución del número y tamaño de los tumores, además del incremento en la apoptosis, lo cual podría contribuir con el resultado encontrado. Es importante mencionar que este estudio llama la atención puesto que evidencias previas demostraron que la exposición inhalada a V_2O_5 contribuye a la carcinogénesis pulmonar (Ress, 2003).

Ante estas evidencias surge la interrogante de si en particular en este modelo de adenomas pulmonares inducidos por uretano, el V_2O_5 pudiera alterar la vía metabólica del carcinógeno a través de la modificación del CYP450 como otros compuestos, contribuyendo con el papel anticarcinógeno del V.

2.9 Modelo de carcinogénesis inducida por uretano

Los modelos de cáncer en animales, y sobre todo en roedores, son de utilidad en el estudio de esta patología. Los tumores producidos en modelos murinos se usan de manera importante por ser similares a las neoplasias presentadas en humanos, dado que pueden ser una herramienta útil en el estudio de los eventos moleculares implicados en la carcinogénesis (Mason et al., 2000). Los tumores que se originan en los ratones son similares en características morfológicas, histopatológicas y moleculares a los adenocarcinomas humanos (Meuwissen y Berns, 2005).

Los modelos de tumores espontáneos e inducidos químicamente son los que representan de manera más próxima las características clínicas de la patología. La ventaja de estos modelos es que se pueden reproducir los eventos naturales que llevan al desarrollo del cáncer (Liu y Johnston, 2009). En los modelos de inducción química, los carcinógenos químicos más potentes utilizados son los hidrocarburos aromáticos policíclicos, las nitrosaminas y el **carbamato de etilo**, CEt (Meuwissen y Berns, 2005).

El CEt, también conocido como **uretano**, es un éster etílico del ácido carbámico. Se encuentra en muchos productos alimenticios fermentados y bebidas alcohólicas como queso, pan, yogurt, vino, whisky y salsa de soja (Li et al., 2017; Gowd, et al., 2018). En todos los casos las cantidades de uretano son de nanogramos, no obstante, en los brandies frutales las cantidades pueden variar hasta 20.2 mg/g y constituyen una vía de exposición de importancia a este compuesto, pero no la única (IARC, 2010; Forkert, 2010).

Comercialmente este compuesto se ha utilizado como cosolvente en plaguicidas, fumigantes y cosméticos (Benson y Beland, 1997). El uretano es además constituyente del tabaco en concentraciones que van desde los 310 a 375 ng/g (Forkert et al., 2010).

La carcinogenicidad del uretano ha sido probada además en distintas especies como ratas, ratones, hámsteres y monos, por lo que se le considera como un compuesto carcinógeno bien establecido en animales. La IARC lo ha clasificado como “probable carcinógeno en humanos”, dentro del grupo A (IARC, 2010), mientras que el Programa Nacional de Toxicología (NTP) de los Estados Unidos lo considera como “razonablemente anticipado a ser carcinógeno en humanos” (NTP, 2000). Se ha demostrado que este compuesto es capaz de producir tumores, tanto benignos como

malignos, en distintos órganos, especialmente tumores de pulmón, por lo que el adenocarcinoma inducido por uretano en modelos murinos se ha convertido en un modelo aceptado para estudiar los adenocarcinomas humanos (Narayan y Kumar, 2012).

Se considera que la activación metabólica del uretano es requisito para inducir el desarrollo de tumores (Hoffler et al., 2003). El metabolismo del uretano ha sido bien estudiado en modelos animales como el ratón, teniendo como vida media 24 h (Hoffler et al., 2003) y se lleva a cabo a través de dos vías principales:

La primera vía del metabolismo del uretano es catalizada por una esterasa, lo que lleva a la formación de dióxido de carbono (CO_2), etanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$) y amoníaco (NH_3). La segunda vía es a través del metabolismo oxidante por medio de varias enzimas de la superfamilia citocromo CYP450 y corresponde a la ruta de bioactivación de este compuesto.

El principal citocromo que se ha encontrado como responsable de la bioactivación del uretano es el **citocromo 2E1**, CYP2E1. El uretano sufre la primera reacción de desaturación a través del CYP2E1 (96 %) y otros citocromos (3 %), lo que lleva a la formación de vinil carbamato, que posteriormente es transformado en vinil carbamato epóxido a través de las mismas enzimas (Hoffler et al., 2003; Ghanayem, 2007). El vinil carbamato epóxido es el último metabolito que se produce por esta vía de metabolismo del etil carbamato y es altamente reactivo con el DNA y se considera como el metabolito carcinogénico del uretano, *Figura 2*.

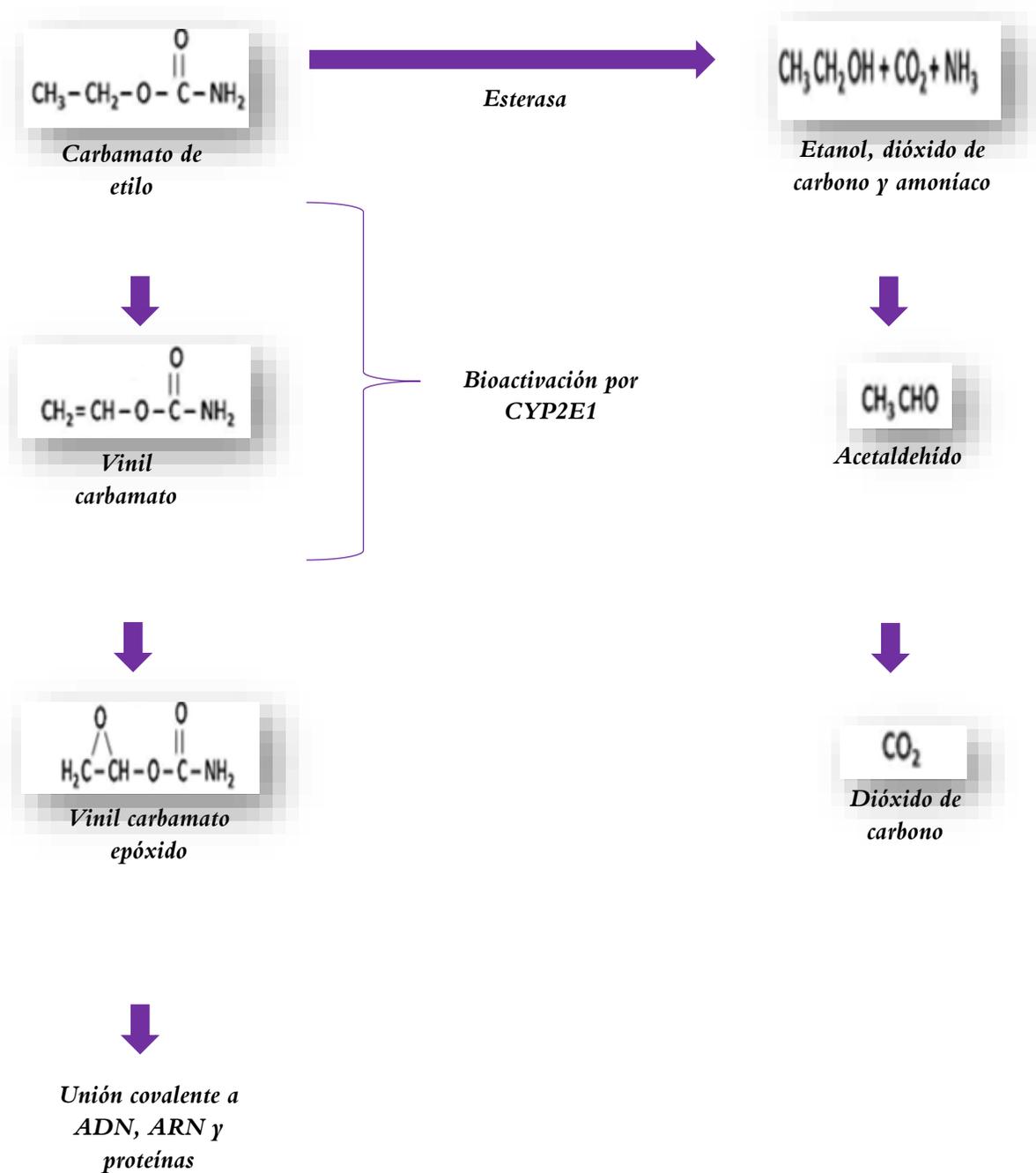


Figura 2. Metabolismo del uretano efectuada por el CYP2E1. Modificado de Ghanayem, 2007.

Las neoplasias que se originan por este compuesto en modelo de ratón se forman mayormente en pulmón e hígado debido a que presentan amplia susceptibilidad al compuesto, además de que estos órganos poseen grandes cantidades de CYP2E1 que como ya se mencionó anteriormente es el responsable de la bioactivación del uretano.

2.10 Principales órganos blanco del uretano

2.10.1 El hígado

El hígado del ratón pesa alrededor de 2 g y está constituido por cuatro lóbulos llamados (derecho, medial, izquierdo y caudado). Su función radica en que los nutrientes absorbidos en el tubo digestivo se procesen y se almacenen para que sean utilizados por otros órganos, además de que es metabolizador porque es el órgano con mayor expresión de enzimas CYP450 (Junqueira y Carneiro, 2022). A continuación, se describe la estructura de este órgano:

Lobulillo hepático. El componente estructural básico del hígado es la célula hepática o mejor conocido como hepatocito **Figura 3**, estas células se agrupan en placas interconectadas. En los cortes histológicos se observan unidades estructurales denominadas lobulillos hepáticos que son estructuras poligonales con varias triadas portales en la periferia y una vena centrolobulillar que tienen la función de transportar la sangre proveniente del tubo digestivo, del bazo y del páncreas (Junqueira y Carneiro, 2022).

Cada lobulillo se compone de placas o láminas de hepatocitos que se entremezclan con capilares sinusoides, que desembocan en una vena centrolobulillar. En la periferia del lobulillo hay tejido conjuntivo, en el que se encuentra la región porta, que contiene a la triada portal cuyos componentes son:

- a) Arteriola:** Está revestida de epitelio simple plano. Contiene sangre proveniente del tronco celiaco, rama de la aorta abdominal, la cual tiene el papel de conducir la sangre hasta el hígado.
- b) Vénula:** Está revestida de epitelio simple plano con una capa muscular circular prominente, su función radica en transportar sangre proveniente del tubo digestivo, el páncreas y el bazo.
- c) Conducto biliar:** Está revestido de epitelio simple cúbico y su función es transportar la bilis que sintetizan los hepatocitos (Junqueira y Carneiro, 2022).

En el hígado, se ha identificado que los CYP1A2, 2A6, 2B6, 2C8/9/19, 2D6, 2E1 y 3A4/5 representan el 70 % del contenido total de CYP450 hepático (Molina-Ortiz et al., 2012). Además, CYP2E1 es una de las isoformas CYP más abundantes en el humano y en el ratón (Zhu et al., 2022).

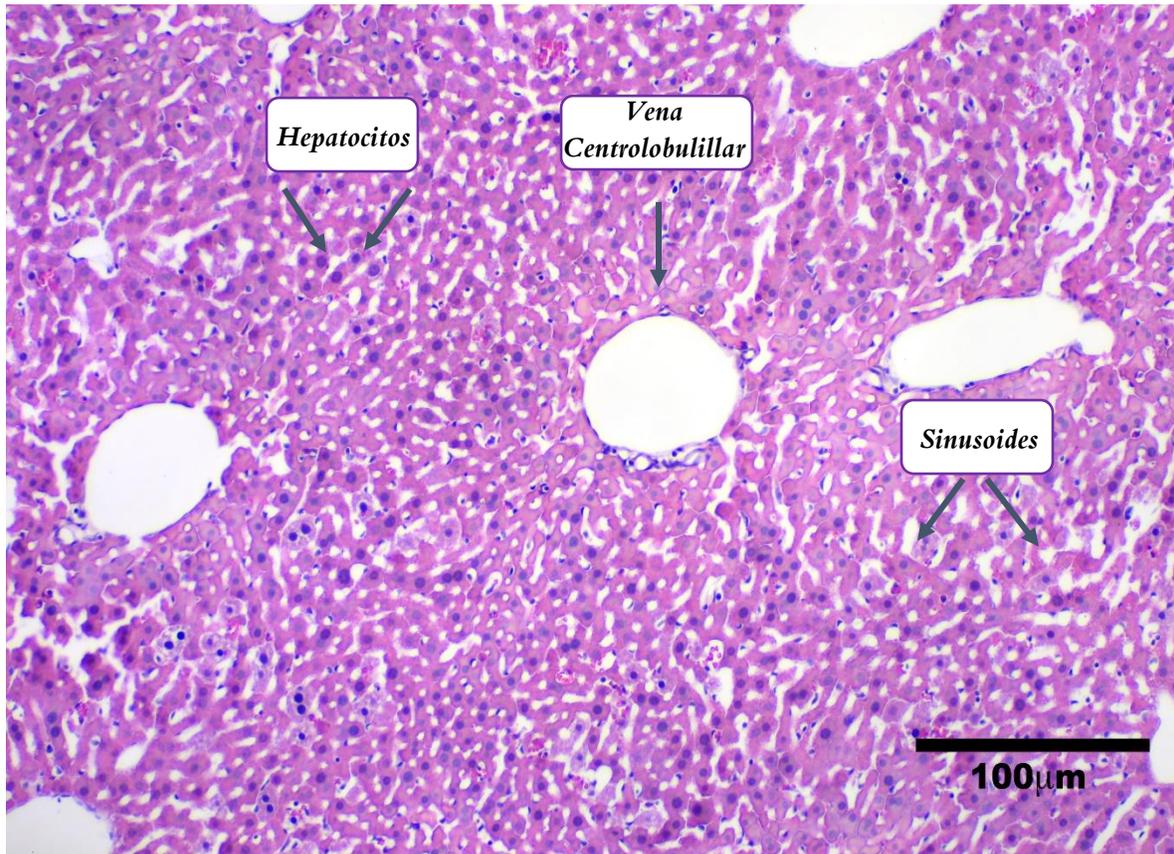


Figura 3: Fotomicrografía de corte histológico de hígado en ratón teñido con hematoxilina y eosina.

2.10.2 El pulmón

Los pulmones son los órganos respiratorios de todos los mamíferos y su importancia radica en que permiten el intercambio de gases en el organismo. Forman parte del sistema respiratorio el cual está constituido por dos porciones **i**) porción conductora, comprendida por la cavidad nasal, la faringe, la tráquea, los bronquios y los bronquiolos, y **ii**) porción respiratoria (en la que se produce el intercambio de gases) compuesta por los bronquiolos respiratorios, los conductos alveolares y los alvéolos (Junqueira y Carneiro, 2022).

Dado que el pulmón es de los principales órganos blanco del uretano, a continuación, se describe como está estructurado en el ratón, que es el modelo biológico de este estudio:

Bronquios intrapulmonares. En los ratones, los dos bronquios extrapulmonares entran en los pulmones derecho e izquierdo en donde se subdividen en los bronquios intrapulmonares, que suministran las diferentes regiones anatómicas de los pulmones, su función radica en conducir el aire hacia las partes más distales del pulmón (Treuting et al., 2018).

Los bronquios intrapulmonares se dividen de acuerdo con el número de lóbulos presentes en cada pulmón, para el pulmón derecho (cuatro) mientras que para el izquierdo solo uno, luego estos, se dividen posteriormente en bronquios segmentarios o terciarios (Treuting et al., 2018).

Histológicamente los bronquios intrapulmonares proximales en ratones están revestidos de epitelio cilíndrico a cúbico simple compuesto predominantemente por **células club** que representan al 59 % de la población epitelial (de las cuales se hablará más adelante), células ciliadas que representan al 28 % y células caliciformes con el 13 %. En el bronquio del ratón, se encuentran fibras elásticas dentro de su lámina propia y la submucosa que es muy delgada y separa a las células epiteliales de la capa muscular (Treuting et al., 2018).

Bronquiolos. La subdivisión de los bronquios segmentarios origina a los bronquiolos que miden 1 mm o menos. Estos bronquiolos se llaman terminales, que al ramificarse dan origen a los bronquiolos respiratorios. Al conjunto terminal con los bronquiolos respiratorios y alvéolos que reciben aire se les llama acino pulmonar (Ross et al., 2007).

Como en los bronquios, el epitelio que reviste los bronquiolos posee también células club, **Figura 4**. Estas se encuentran entre las células ciliadas de los bronquiolos, su función es la secreción del agente tenso activo que impide la adhesión luminal; además secretan la **proteína CC16** (proteína de célula club 16 kDa) que es componente de la secreción de la vía aérea (Gartner y Hiatt, 2008).

Morfológicamente las células club son cúbicas, poseen un núcleo basal y domo apical de longitud variable en el que almacenan gránulos con las secreciones que producen como ya se mencionó anteriormente (Reynolds y Malkinson, 2010).

Cabe destacar que las células club contienen moléculas detoxificadoras de xenobióticos, expresan altos niveles de mono-oxigenasas del CYP450, lo que les permite metabolizar grandes cantidades de sustancias (Ding y Kaminsky, 2003). Estudios en murinos señalan que algunas isoformas de CYP450 se expresan de manera abundante y constitutivamente en estas células; algunas isoformas son CYP1A1 (Choudhary et al., 2003; Chang et al., 2006), CYP2B (Lee y Dinsdale, 1993; Choudhary et al., 2003) y CYP2E1 (Hukkanen et al., 2002), razón por la cual, son susceptibles al efecto de agentes carcinógenos.

Alvéolos. Los alvéolos son las unidades terminales del árbol respiratorio y pueden describirse como finas bolsas ubicadas en las paredes de los bronquiolos respiratorios, especializados en el intercambio gaseoso (Treuting et al., 2018).

El epitelio alveolar en el ratón, como en humanos, está constituido por dos tipos celulares, los neumocitos tipo I y II, **Figura 4**.

- a) **Los neumocitos tipo I o células alveolares tipo I:** Son células planas, que revisten la mayor parte de la superficie de los alvéolos. Forman parte de la barrera hematogaseosa, junto con el endotelio de los capilares, a través de la cual se da el intercambio gaseoso.
- b) **Los neumocitos tipo II o células alveolares tipo II:** Son células secretoras. Su citoplasma posee cuerpos laminares ricos en lípidos y proteínas, que son secretados al espacio alveolar y funcionan como agente tensoactivo, conocido como surfactante (Ross et al., 2007). Al igual que las células club son células activas metabólicamente por lo que también contienen en grandes cantidades de CYP2E1 y otros citocromos (Hukkanen et al., 2002).

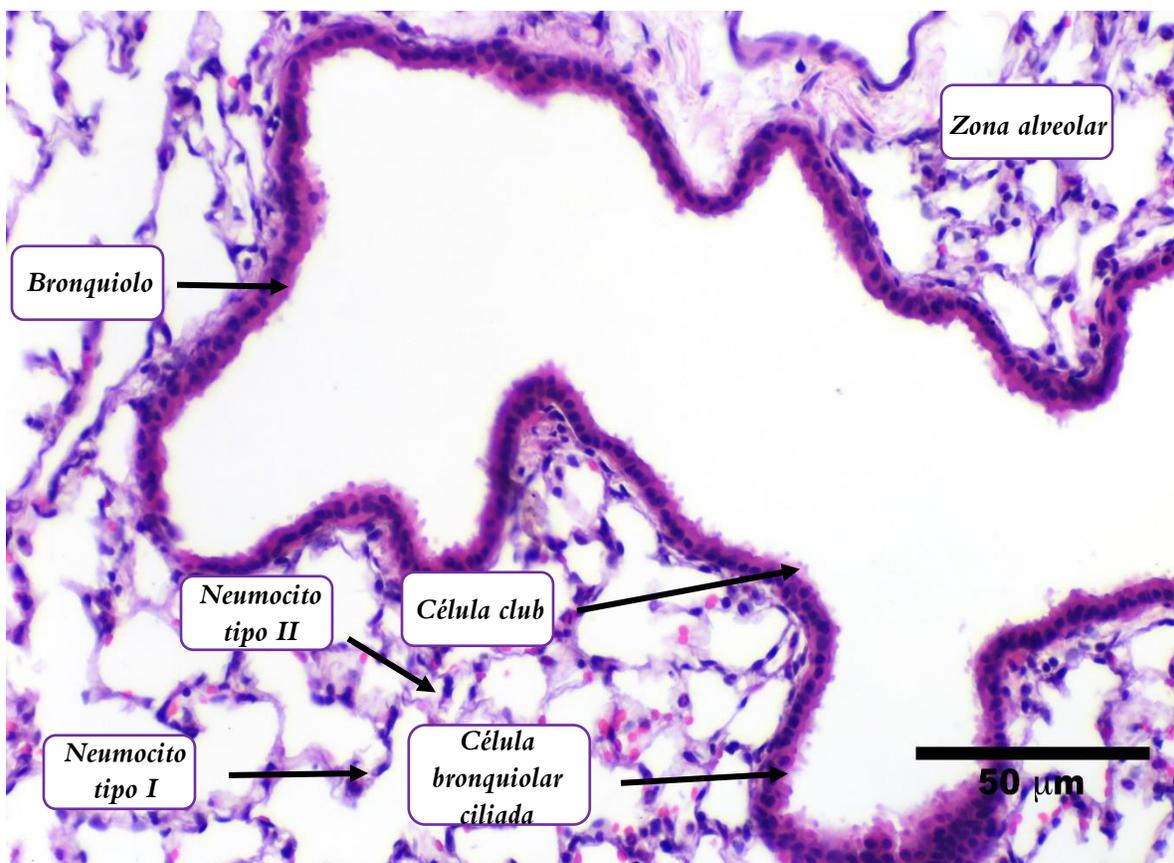


Figura 4: Fotomicrografía de corte histológico de pulmón en ratón teñido con hematoxilina y eosina.

3. Justificación

El V es un metal que forma parte de las partículas suspendidas en la atmósfera del Valle de México. Este produce distintos efectos sobre el metabolismo entre los que se ha identificado la modulación de las enzimas del CYP450. Las evidencias demuestran que algunos compuestos de V son capaces de modificar la expresión de estos citocromos alterando el desarrollo de los tumores en distintos órganos promoviendo el efecto anticarcinogénico de los mismos. Por lo anterior resulta importante explorar el efecto de la inhalación de V_2O_5 en la expresión del CYP2E1, que podría contribuir a la reducción de los adenomas pulmonares observada previamente por López-Valdez., 2021. Por lo anterior la pregunta a investigar es:

¿Cuál será el efecto de la inhalación de V en la expresión hepática y pulmonar del CYP2E1 en el modelo de carcinogénesis inducida por uretano?

4. Hipótesis

La inhalación de V_2O_5 modificará la expresión hepática y pulmonar del CYP2E1 en el modelo de carcinogénesis inducida por uretano en la primera semana de tratamiento.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

- Analizar el efecto de la inhalación de V_2O_5 en la expresión hepática y pulmonar del CYP2E1 en el modelo de carcinogénesis inducida por uretano en la primera semana de tratamiento.

5.2 Objetivos particulares

En el modelo de carcinogénesis inducida por uretano en la primera semana de tratamiento:

- Identificar por inmunohistoquímica, el efecto de la inhalación de V_2O_5 en la expresión de CYP2E1 en hígado y pulmón.
- Analizar las diferencias entre los grupos experimentales.

6. Material y método

6.1 Animales y tratamientos

Se utilizaron 30 ratones macho de la cepa CD-1 con un peso de 30 a 35 g que se mantuvieron en ciclos de luz - oscuridad (12:12 h), con agua y alimentación (OSAFE DIETS Premium Scientific Diet) *ad libitum*. El protocolo experimental se llevó a cabo de acuerdo con la Guía de Cuidado y Uso de animales de Laboratorio (Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council). La cantidad total de ratones se dividió en seis grupos para los diversos tratamientos descritos en la **Tabla 3, Figura 5 y 6**.

Tabla 3. Descripción de los grupos y tratamientos aplicados.

Nombre del grupo	Número de animales utilizados	Tratamiento aplicado
Grupo 1: Control	5 animales	Inhalación de solución salina al 0.9 % 1 h dos veces por semana.
Grupo 2: Vanadio	5 animales	Inhalación de V ₂ O ₅ (1.26 mg/m ³) 1 h dos veces por semana.
Grupo 3: Uretano 24 h	5 animales	Inyección ip de uretano (1 mg/g de peso del animal) 24 h antes del sacrificio.
Grupo 4: Vanadio/Uretano 24 h	5 animales	Inhalación de V ₂ O ₅ (1.26 mg/m ³) 1 h/dos veces por semana e inyección ip de uretano (1 mg/g de peso del animal) 24 h antes del sacrificio.
Grupo 5: Uretano 96 h	5 animales	Inyección ip de uretano (1 mg/g de peso del animal) 96 h antes del sacrificio.
Grupo 6: Uretano 96 h/Vanadio	5 animales	Inyección ip de uretano (1 mg/g de peso del animal) 96 h antes del sacrificio e inhalación de V ₂ O ₅ (1.26 mg/m ³) 1 h dos veces por semana.

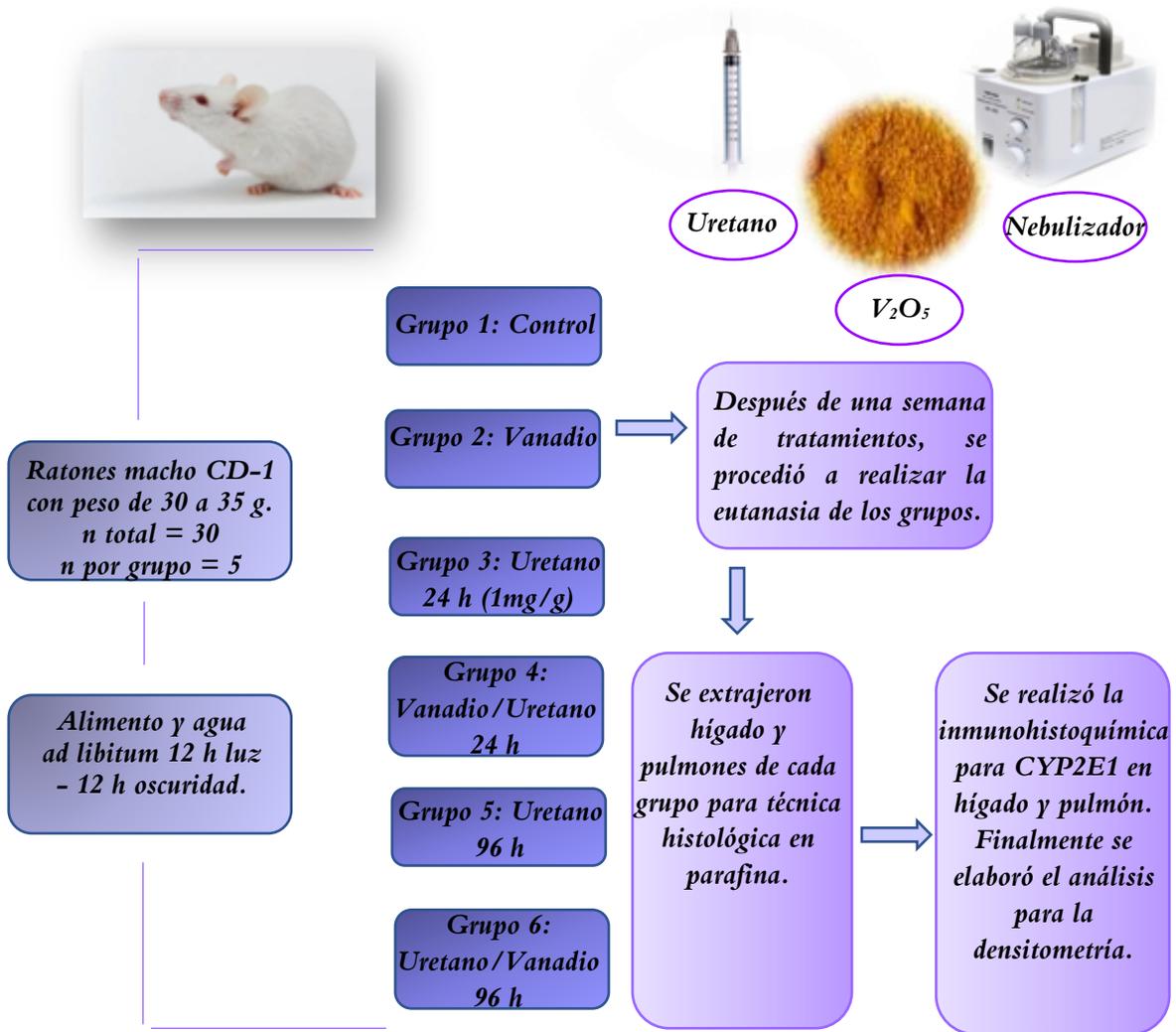
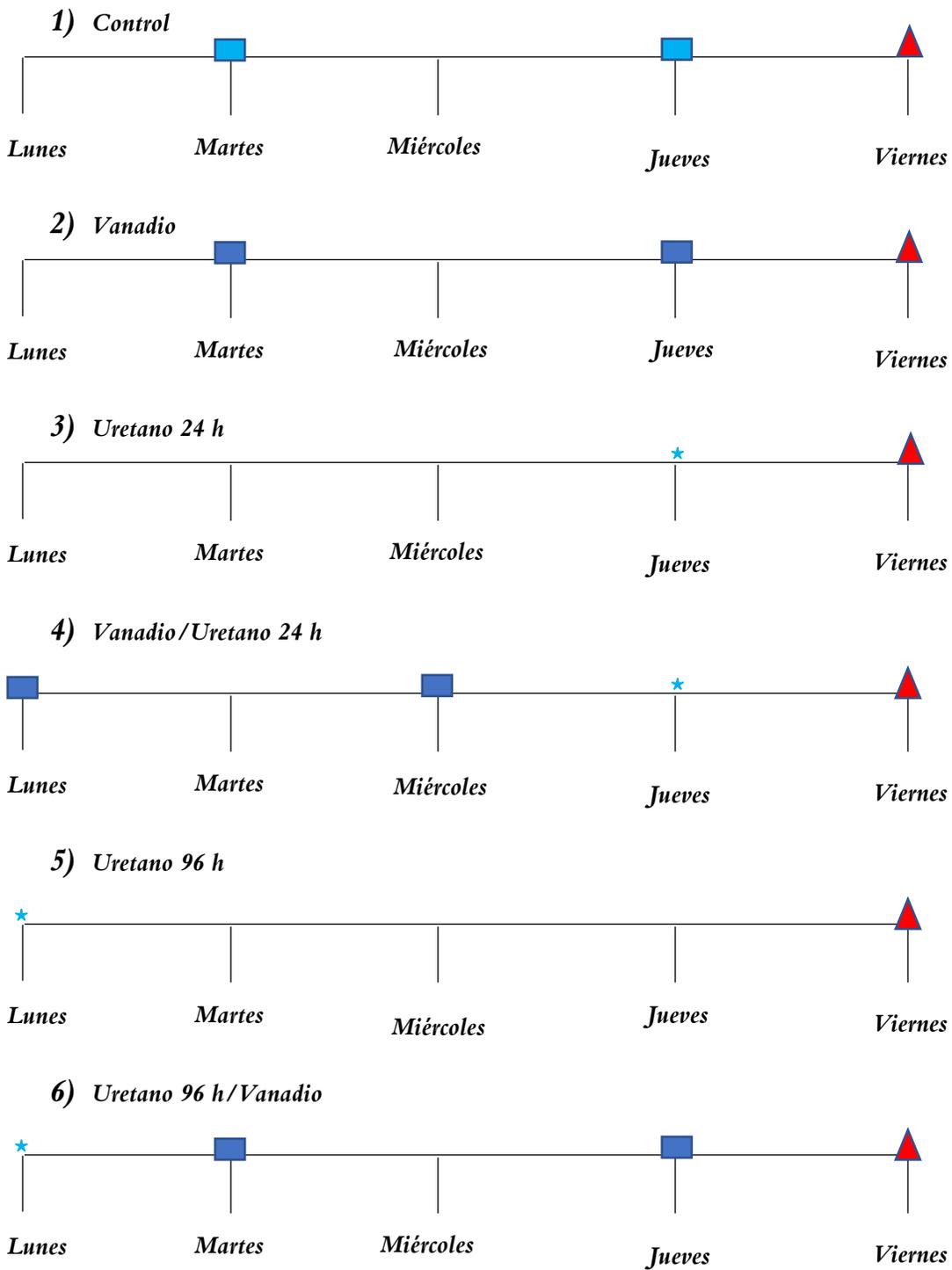


Figura 5. Diagrama del método empleado.

6.2 Protocolo experimental

Grupos formados por cinco ratones macho cada uno:



- Inhalación de solución salina al 0.9 %
- * Inyección ip de uretano (1 mg/g de peso del animal)
- Inhalación de V₂O₅ (1.26 mg/m³)
- ▲ Eutanasia del grupo con inyección ip de pentobarbital sódico (180 mg/kg de peso vivo).

Figura 6. Diagrama de los protocolos experimentales utilizados.

6.3 Eutanasia y extracción de los órganos

Después del tratamiento de una semana como lo indica la **Figura 5**, se realizó la eutanasia de los animales por inyección ip de pentobarbital sódico (180 mg/kg de peso vivo). Posteriormente, los ratones fueron perfundidos con solución salina al 0.9 % y solución de paraformaldehído al 4 % por vía intracardiaca para su fijación y después se insuflaron los pulmones por vía intratraqueal con paraformaldehído al 4 % para ser procesados por la técnica histológica en parafina y finalmente realizar la técnica de inmunohistoquímica.

6.4 Inmunohistoquímica

Para el desarrollo de esta técnica se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

Desparafinación de los tejidos. Se colocaron las laminillas con los tejidos en la estufa a 56 °C un día antes (hasta ver una gota de parafina en las laminillas). Después los tejidos se pasaron por el tren de xilol y alcohol (en orden descendente) y posteriormente con agua destilada (los tejidos se dejaron 2 min en cada solución).

Recuperación antigénica por calor y presión. Se prepararon 40 mL de solución de recuperación Diva Decloacker®. Posteriormente se colocó la solución de recuperación en un vaso coplin de plástico junto con las laminillas y se sobrepuso la tapa sin cerrar. Después se añadieron 500 mL de agua desionizada en la olla de presión y se introdujo el coplin con las laminillas. Se cerró correctamente la olla de presión y se llevó a 15 psi de presión por 3 min, se liberó la presión de la olla levantando ligeramente la válvula y posteriormente se dejó enfriar para abrirse con cuidado, se sacó el coplin poniéndose a enfriar en baño maría y se realizó la preparación de la cámara húmeda. Luego, las laminillas se sacaron del coplin y se lavaron dos veces con PBS (solución amortiguadora de fosfato salina) por 5 min en la cámara húmeda.

Inhibición de la peroxidasa endógena. Se preparó la solución de inhibición de la peroxidasa endógena con peróxido de hidrógeno (H₂O₂) al 0.9 % y se puso a incubar por 45 min con las laminillas. Luego se realizó un lavado inmediato con PBS de 5 min y después tres lavados con PBST (solución amortiguadora de fosfato salina más Tween) de 5 min cada uno.

Bloqueo de las laminillas con solución de albúmina. Se hizo la solución de bloqueo con albúmina al 2.5 % en PBST y se bloqueó por 1 h a temperatura ambiente. Se realizó un lavado con PBS de 5 min y después tres lavados más con PBST.

Reconocimiento del antígeno. Se preparó el anticuerpo primario para ratón CYP2E1 (EMD, Millipore Corp) en un tubo Eppendorf a una concentración 1:50 (concentración determinada previa titulación), se colocaron 100 µL de solución con anticuerpo primario a cada laminilla y se incubó toda la noche. Concluida la incubación, se realizó un lavado con PBS y tres lavados más con PBST.

Amplificación de la reacción. Se colocó el complejo anticuerpo secundario-HRP (Biocare Medical) y se incubó por 45 min. Luego se realizó un lavado con PBS y 3 lavados con PBST por 5 min cada lavado.

Revelado de la Inmunohistoquímica. El exceso de PBS fue retirado de todas las laminillas. Se preparó la solución reveladora en un tubo Eppendorf negro con diaminobencidina (DAB) utilizando el kit de revelado (liquid DAB-Plus Substrate Kit, invitrogen) y se resuspendió la solución. Se colocaron 100 µL a cada laminilla y se incubaron por 5 min hasta que se observó la marca café característica.

Contratinción. Finalmente, las muestras de tejido se tiñeron con hematoxilina y se montaron para su posterior observación.

6.5 Análisis estadístico

Se realizó un análisis de normalidad Kolmogorov-Smirnov para confirmar el tipo de distribución de los datos y así elaborar las pruebas estadísticas correspondientes. Los datos que se obtuvieron no cumplieron con una distribución normal, por lo que se utilizaron pruebas no paramétricas, el análisis de Kruskal-Wallis con prueba *post hoc* de Dunn bajo el programa PRISMA versión 10. Los valores con $p \leq 0.05$ fueron considerados diferentes estadísticamente.

7. Resultados

7.1 Hígado

7.1.1 Morfología del hígado

En las fotomicrografías de los cortes de hígado se observa la morfología normal vista en todos los grupos, **Figura 7**. Se muestran las células epiteliales (hepatocitos) alrededor de la vena centrolobulillar con una disposición normal de los cordones, sin alteraciones relevantes.

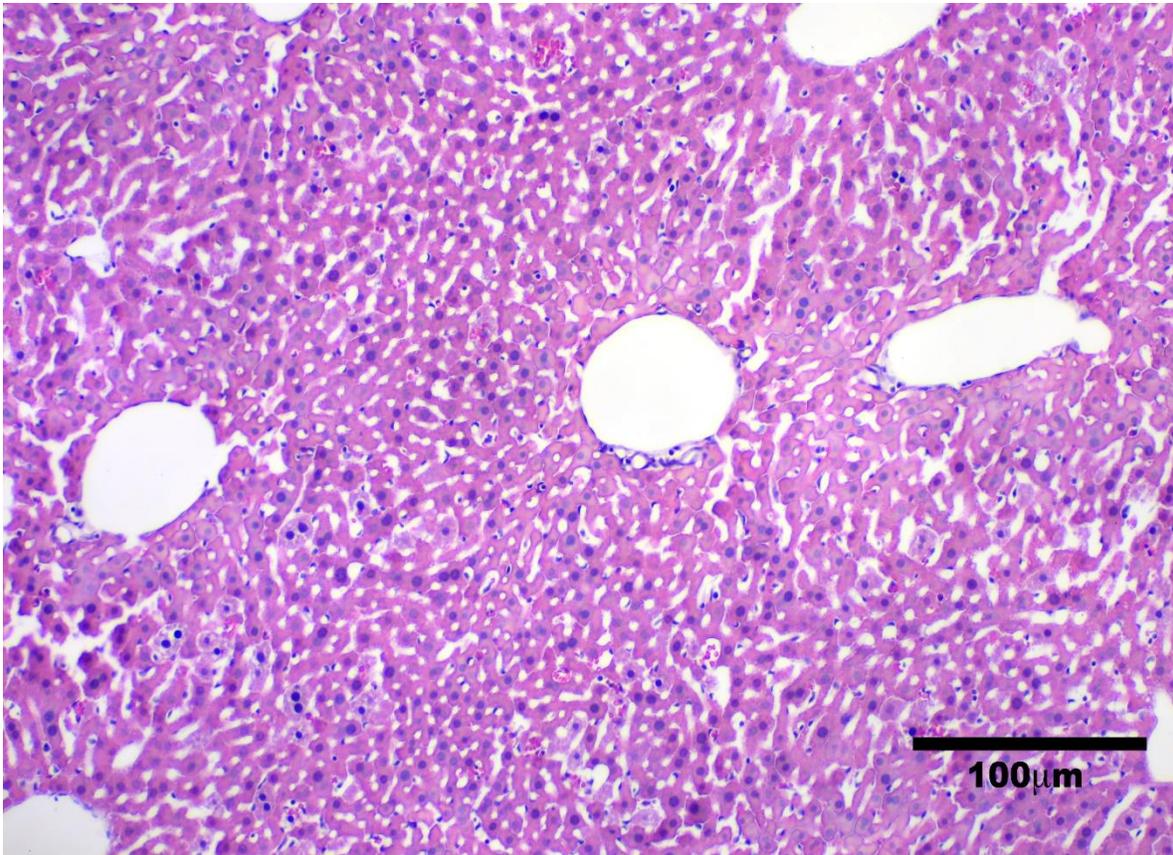


Figura 7. Fotomicrografía de un corte longitudinal de hígado de ratón teñido con hematoxilina y eosina que muestra la morfología observada en todos los grupos. No se presentaron cambios morfológicos en los lobulillos hepáticos ni en los núcleos de los hepatocitos. Barra escala de 100 μm .

7.1.2 Inmunohistoquímica

En las fotomicrografías de la inmunohistoquímica para CYP2E1 en hígado se encontró que los hepatocitos pericentrales son los que expresan el nivel más alto del citocromo CYP2E1, esta marca se observó en color café.

En el grupo control se localizó la marca basal de CYP2E1 principalmente en los hepatocitos pericentrales de los lobulillos hepáticos. En el grupo V se encontró un aumento de la marca en la misma ubicación, igual que en los animales del grupo Uretano 24 h y Vanadio/Uretano 24 h. Por otra parte, en el grupo Uretano 96 h la marca de CYP2E1 disminuyó drásticamente respecto a los otros grupos, mientras que en el grupo Uretano 96 h/Vanadio la marca se mantuvo como en el control.

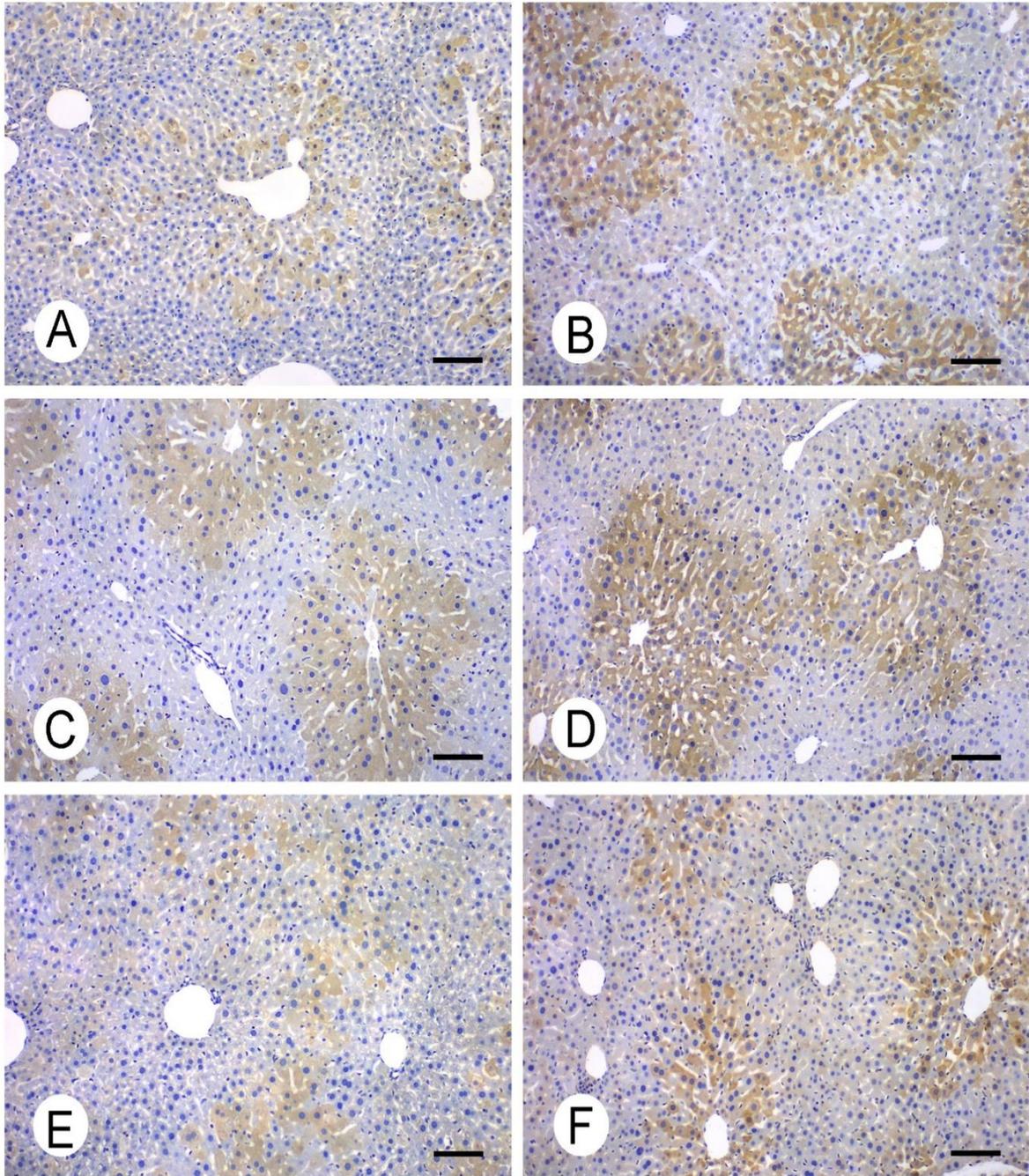


Figura 8. Fotomicrografías de inmunohistoquímica para CYP2E1 en hígado. Se observa la marca color café en los hepatocitos pericentrales. En A) Control, B) Vanadio, C) Uretano 24 h, D) Vanadio/Uretano 24 h, E) Uretano 96 h y F) Uretano 96 h/Vanadio. Barra escala de 100 μ m.

7.1.3 Análisis de densitometría

El análisis de la densidad media de la expresión de CYP2E1 mostró diferencias significativas entre los grupos, **Figura 9**. El grupo control presentó diferencia con los grupos Vanadio, Uretano 24 h y Vanadio/Uretano 24 h en los que la expresión de CYP2E1 incrementó significativamente. Por otra parte, en el grupo Uretano 96 h se presentó disminución significativa de la expresión de esta proteína con respecto a los grupos Vanadio, Uretano 24h, Vanadio/Uretano 24 h y Uretano 96h/Vanadio.

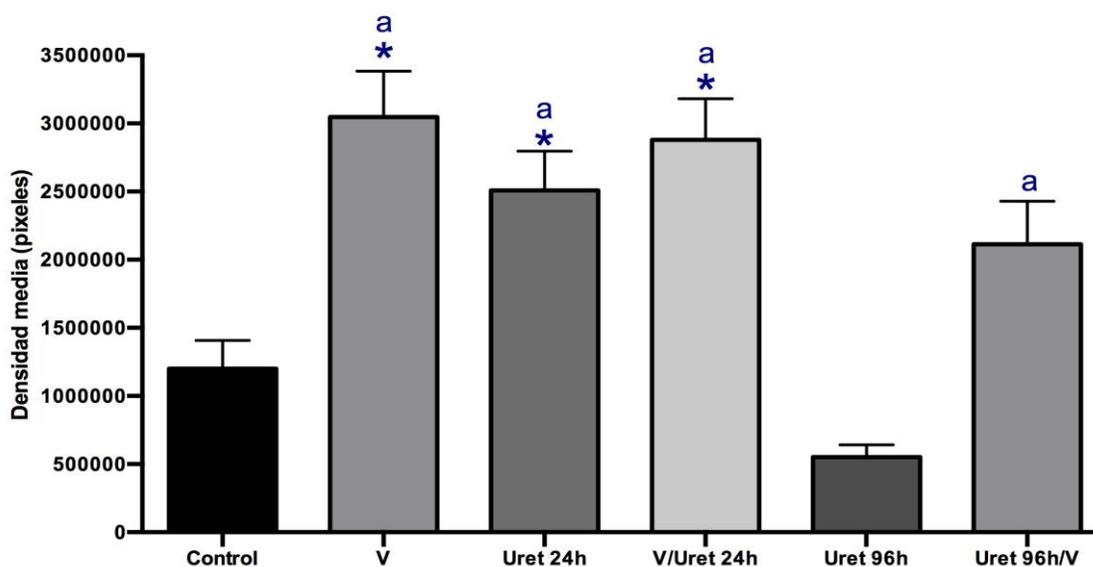


Figura 9. Densidad media de la expresión de CYP2E1 para hígado de los ratones Control, Vanadio (V), Uretano 24 h (Uret 24 h), Uretano 96 h (Uret 96 h) y los combinados Vanadio/Uretano 24 h (V/Uret 24) y Uretano 96 h/V (Uret 96h/V). Análisis estadístico Kruskal-Wallis con prueba *post hoc* de Dunn $p \leq 0.05$.

*. Diferencia significativa contra el grupo Control.

a. Diferencia significativa contra el grupo Uretano 96 h.

7.2 Pulmón

7.2.1 Morfología del pulmón

Las fotomicrografías de los cortes histológicos de pulmón muestran la morfología normal en todos los grupos; en la **Figura 10** se muestra un bronquiolo que presenta epitelio cúbico simple, conformado principalmente por células club y un número muy reducido de células ciliadas. También se observa la zona alveolar conformada por los dos tipos celulares, los neumocitos tipo I con su clásica morfología aplanada y los neumocitos tipo II cúbicos.

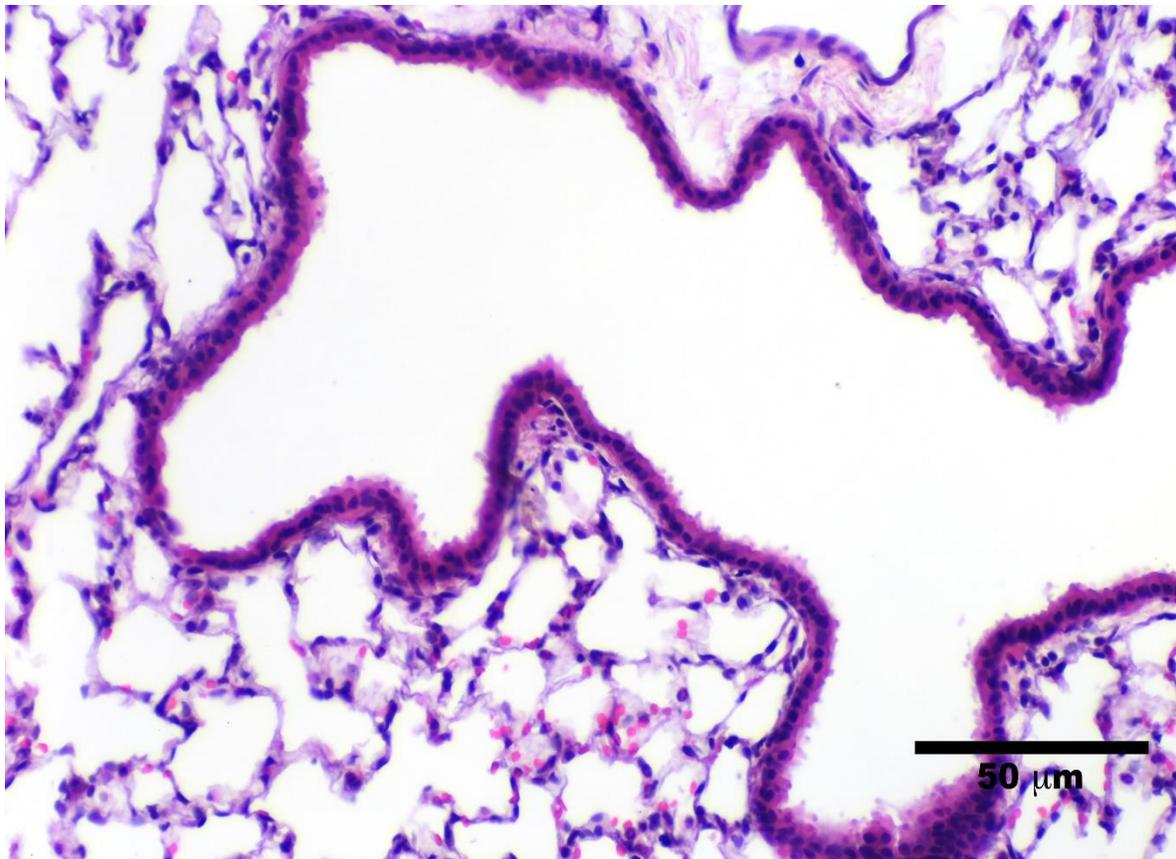


Figura 10. Fotomicrografía de un corte longitudinal de pulmón de ratón teñido con hematoxilina y eosina que muestra la morfología observada en todos los grupos. No se presentaron cambios morfológicos en los bronquiolos. Barra escala de 50 μm.

7.2.2 Inmunohistoquímica

En las fotomicrografías de inmunohistoquímica para CYP2E1 en pulmón se observó la característica marca café en las células club de los bronquiolos. En el grupo control la expresión basal de CYP2E1 en las células club fue escasa. En los grupos Uretano 24 h, Uretano 96 h y Uretano 96 h/Vanadio la expresión de la proteína fue mayor que en el control. Respecto a los grupos Vanadio y Vanadio/Uretano 24 h la marca se expresó semejante al control.

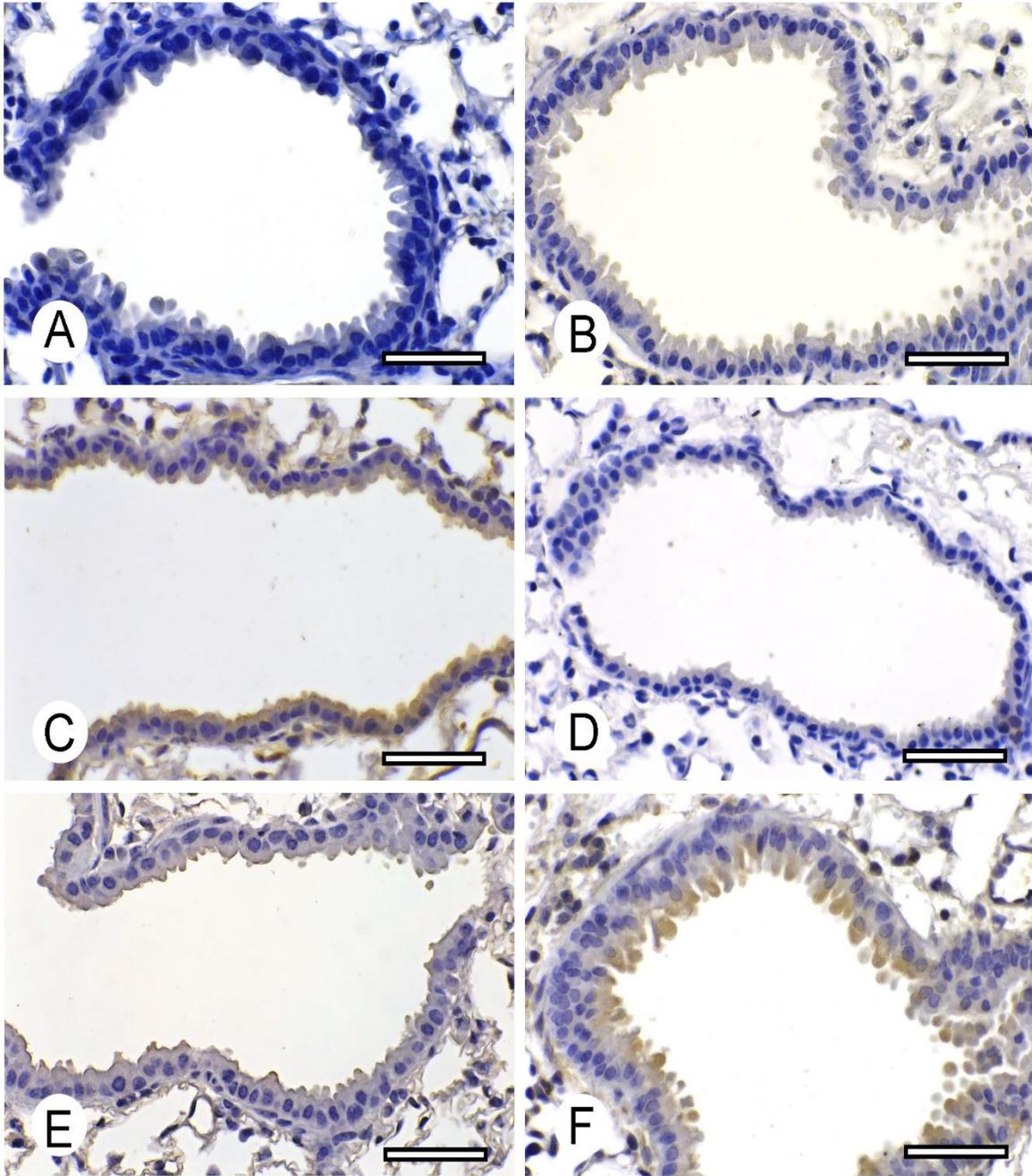


Figura 11. Fotomicrografías de inmunohistoquímica para CYP2E1 en pulmón. Se observa la marca color café en las células club. En A) Control, B) vanadio, C) Uretano 24 h, D) Vanadio/Uretano 24 h, E) Uretano 96 h y F) Uretano 96 h/Vanadio. Barra escala de 50 μ m.

7.2.3 Análisis de densitometría

El análisis de la densidad media en pixeles de los grupos en pulmón, **Figura 12** mostró diferencias estadísticamente significativas y además se observó una densidad media menor del CYP2E1 que en el hígado, donde los niveles en pixeles eran mucho mayores.

El grupo control presentó diferencia contra los grupos Uretano 24 h, Uretano 96 h y Uretano 96 h/Vanadio en los que la expresión de CYP2E1 fue significativamente mayor, mientras que los grupos V y Vanadio/Uretano 24 h presentaron expresión de CYP2E1 igual al control. También se encontró diferencia de los grupos combinados reflejada en una disminución del citocromo en el grupo Vanadio/Uretano 24 h.

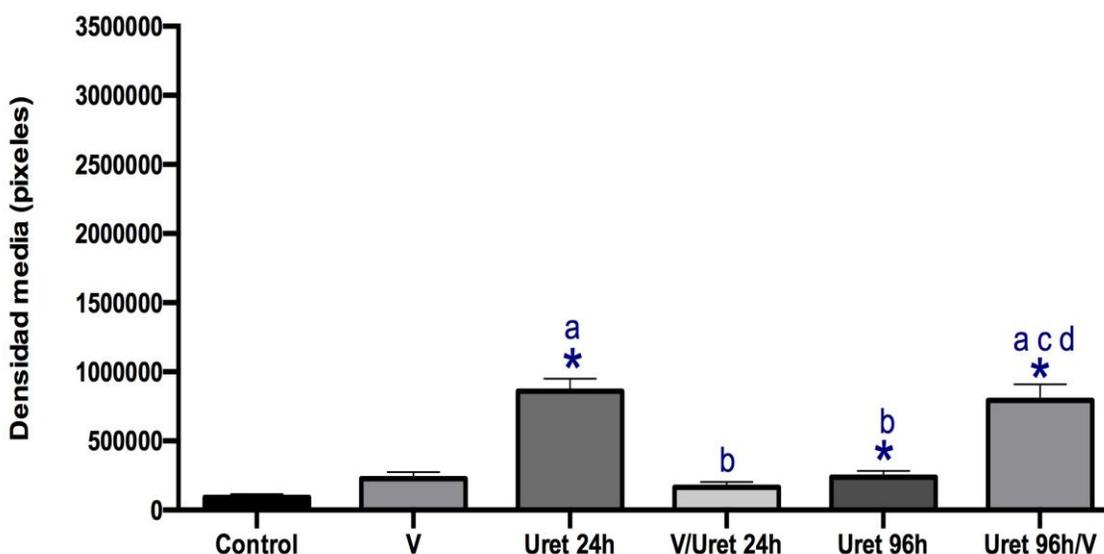


Figura 12. Densidad media de la expresión de CYP2E1 para pulmón de los ratones Control, Vanadio (V), Uretano 24 h (Uret 24 h), Uretano 96 h (Uret 96 h) y los combinados Vanadio/Uretano 24 h (V/Uret 24) y Uretano 96 h/V (Uret 96h/V).

Análisis estadístico Kruskal-Wallis con prueba *post hoc* de Dunn $p \leq 0.05$.

*. Diferencia significativa contra el grupo Control.

a. Diferencia significativa contra el grupo Vanadio.

b. Diferencia significativa contra el grupo Uretano 24 h.

c. Diferencia significativa contra el grupo Vanadio/Uretano 24 h.

d. Diferencia significativa contra el grupo Uretano 96 h.

8. *Discusión*

El V es un metal de transición que ha adquirido atención especial en los últimos por sus aplicaciones como agente anticarcinógeno (Ścibior et al., 2020). Uno de los mecanismos que podría relacionarse con el papel antineoplásico del V y que ha sido poco estudiado es la modulación de la actividad de las enzimas de fase I CYP450, las cuales están directamente implicadas con la disminución de tumores en diversos tipos de cáncer (Ścibior et al., 2020; Bishayee et al., 2000).

La finalidad del presente estudio fue observar el efecto que tiene la inhalación de V en la expresión de CYP2E1 en hígado y pulmón de ratón, que lo expresa de manera constitutiva (Zhu et al., 2022; Ghanayem 2007), y a su vez son órganos blanco de diversos xenobióticos como el uretano que es el responsable de la formación de neoplasias en ambos órganos.

Como parte del estudio se analizó en principio los efectos en la morfología de los órganos de interés en resultado por la exposición a V y a uretano. En lo que respecta a los cambios producidos en la morfología hepática por la exposición a V, en el presente trabajo no se observaron alteraciones en ninguno de los grupos respecto al control. Se conoce que la inhalación de este metal en modelos murinos induce daño hepático con cambios regenerativos en exposiciones más prolongadas tales como hepatocitos trinucleados, meganúcleos e infiltrado inflamatorio (Cano-Gutiérrez et al., 2012). En otro estudio donde se encontraron los mismos efectos fue en el reportado por Cervantes-Valencia et al., 2021, en un periodo de exposición de 4 y 8 semanas con una concentración mayor del metal a la utilizada en este trabajo, la cual fue de (1.4 mg/m^3) V_2O_5 por vía inhalada.

De igual modo que el hígado, el pulmón se mostró sin cambios en su morfología en todos los grupos respecto al control. Se conoce que como en el hígado, en el pulmón también se producen alteraciones cuando hay exposición a este metal. López-Valdez et al., 2020 identificó cambios morfofisiológicos en el epitelio pulmonar (desprendimiento de las células epiteliales, infiltrado inflamatorio en el espacio alveolar e hiperplasia epitelial bronquiolar) originados por la inhalación de V_2O_5 a dos concentraciones $(1.56 \text{ mg/m}^3$ y $2.57 \text{ mg/m}^3)$ en exposición de 4 y 8 semanas respectivamente.

Los hallazgos encontrados en este experimento demostraron que la toxicidad efectuada por el V en estos órganos no logra manifestarse como alteraciones morfológicas en un periodo corto (una semana) ya que el daño incrementa con respecto al tiempo de exposición como lo han demostrado otros estudios (Li et al., 2013). Esto concuerda con lo reportado por Ávila- Acosta y colaboradores, 2004 donde se observó pérdida de espinas dendríticas de neuronas espinosas, la cual incrementaba con el tiempo de exposición en el modelo de inhalación de V a concentración de (2.57 mg/m^3) en un periodo de 1 a 8 semanas, en donde a la primera semana no se observaron cambios respecto al control (Ávila- Acosta et al., 2004).

En los grupos Uretano, tampoco se encontraron alteraciones morfológicas respecto al control. Esto coincide con lo reportado por Redente y colaboradores, 2007 donde encontraron los primeros daños en pulmones producidos por uretano en ratones A/J a las tres semanas posteriores a la inyección ip del carcinógeno, las lesiones tempranas producidas por uretano aparecen en los pulmones a las tres semanas y progresan a lesiones macroscópicas a las nueve semanas (Redente et al., 2007). Respecto al hígado, Altavilla y colaboradores, 2004 encontraron lesiones en este órgano a los 90 días posteriores a la administración de uretano en ratones transgénicos (Altavilla et al., 2004), por lo que a la primera semana no se pueden observar estos cambios como se llevó a cabo en el presente protocolo.

En cuanto al análisis de la expresión de CYP2E1, los resultados mostraron que la expresión de esta enzima en hígado se expresa de manera constitutiva en el grupo control ya que el hígado es el principal órgano metabolizador que expresa grandes cantidades de CYP2E1 (Zhu et al., 2022). Respecto al grupo de exposición a V, se encontró aumento de la enzima, no hay reportes en los que se evalué el efecto directo de CYP2E1 por V; sin embargo, hay otros metales que producen el mismo efecto como lo es el Cadmio (Cd). Por ejemplo, Jiaxin y colaboradores, 2020 reportaron el incremento en los niveles de ARNm de CYP450 originadas por la exposición a Cd debido a que este metal incrementó la producción de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) que llevó al aumento de los citocromos (Jiaxin et al., 2020).

El término ERO se refiere al grupo de moléculas que contienen oxígeno con diferente reactividad química. Se les considera como metabolitos del oxígeno parcialmente reducidos que poseen una fuerte capacidad oxidante, aunque dicha capacidad varía entre las diferentes especies (Mittal et al., 2014). Esto podría explicar porque el V

aumentó también la expresión de CYP2E1 en este modelo, ya que el V al igual que el Cd es un metal prooxidante, por lo que puede inducir la generación de ERO mediante la reacción de Fenton (Cano-Gutiérrez et al., 2012) y así elevar la expresión de CYP2E1.

En los grupos de hígado en los que la exposición a V fue combinada con la exposición al carcinógeno, los resultados son semejantes a otros estudios. En el grupo V/Uretano 24 h no se encontró modificación en la expresión de esta enzima respecto al grupo V, esto es similar a lo encontrado en otros trabajos en los cuales se lleva a cabo la exposición combinada de algún compuesto de V con un carcinógeno, Kanna y colaboradores, 2003 no reportaron diferencias de CYP450 en el grupo DMH/V respecto al grupo V en un modelo de carcinogénesis de colón en rata inducida por dimetilhidrazina (Kanna et al., 2003). Se requieren más estudios para explicar estos hallazgos. El segundo grupo combinado Uretano 96 h/V mostró aumento de la expresión de CYP2E1 respecto al grupo Uretano 96 h, esto podría deberse a que a las 96 h la expresión de la enzima se encuentra escasa, pero en combinación con el V, este metal pudiera estar incrementando la expresión del citocromo por la producción de ERO.

Respecto a los grupos Uretano 24 h y Uretano 96 h se encontró aumento de la enzima en el grupo Uretano 24 h y la disminución de esta en el grupo Uretano 96 h, esto debido a que la vida media del uretano en ratón es de 24 h (Hoffler et al., 2003), por lo que a las 24 h este citocromo está en un nivel de expresión alto mientras que a las 96 h ya se ha metabolizado más del 90 % del carcinógeno.

En cuanto al pulmón se encontró una expresión menor de CYP2E1 en el grupo control en comparación con el hígado, lo cual se puede explicar por la diferencia en la distribución y expresión basal diferencial en los distintos órganos de los ratones. En el estudio de Renaud y colaboradores, 2011 se comparó la distribución tisular de diferentes isoformas de CYP450 en ratones C57BL/6 y se encontró que la isoforma CYP2E1 es mayormente expresada en el hígado a diferencia del pulmón, además de que las hembras poseen 7 % más de ARNm de este gen en el hígado en comparación con los machos. El hígado, el intestino y el riñón son los principales órganos implicados en la absorción, metabolismo y excreción de compuestos exógenos (Renaud et al., 2011); por lo tanto, no es sorprendente que la mayoría de las enzimas CYP se expresen principalmente en estos órganos en contraste con el pulmón, donde se expresan niveles

bajos de CYP2E1 encontrados en el epitelio bronquiolar, lo que ayuda a entender lo encontrado en este estudio.

En el pulmón, en el grupo V la expresión de CYP2E1 permaneció sin cambios a diferencia de lo encontrado en hígado. Esto pudiera deberse a las defensas antioxidantes que presenta este órgano contra los xenobióticos como lo es el V, el pulmón al estar altamente expuesto a agentes oxidantes posee una respuesta antioxidante mayor, en comparación con el hígado (Ramírez et al., 2007). Tanto el pulmón como el hígado presentan mecanismos de defensa antioxidante como lo es el sistema glutatión (GSH), catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD), las cuales participan en la reducción y detoxificación de ERO (Ramírez et al., 2007; Conde de la Rosa et al., 2008; Bonola et al., 2014). Una diferencia presentada en el pulmón se debe a que en la región de los bronquiolos se encuentra presente la célula club que como ya se mencionó anteriormente secreta la proteína CC16, la cual se ha identificado que, bajo estímulos negativos, como la exposición a sustancias tóxicas prooxidantes como lo es el V, presenta hiperproducción e hipersecreción (Xiao et al., 2007, 2013), teniendo efectos antioxidantes (Pilon et al., 2016) por lo cual el V no aumenta la expresión de CYP2E1 gracias al efecto antioxidante de estas células en conjunto con el sistema de moléculas antioxidantes (GSH, CAT y SOD).

Al igual que en los grupos de uretano presentados en el hígado, en el pulmón también se observó disminución de CYP2E1 en el grupo Uretano 96 h en comparación con el grupo Uretano 24 h donde la expresión de CYP2E1 incrementó y de igual manera se debe a que este compuesto químico ya ha sido metabolizado casi por completo del organismo a las 96 h por lo cual ya solo se expresa poco. Aunque en comparación con el grupo control CYP2E1 aumenta en el grupo Uretano 96 h, caso que en hígado no se observó, esto podría explicarse por la vía de administración del carcinógeno, en este experimento la aplicación del uretano fue por vía ip, esta resulta ser la más utilizada en ratones por ser menos dolorosa que otras vías de administración y además también permite una absorción más rápida del compuesto (Caturinia et al., 2019), por esta vía el carcinógeno llega primero al hígado y posterior a ello se distribuye a los demás órganos, llegando después al pulmón por lo que se metaboliza más tarde en este órgano, es por ello que se observa el aumento de esta enzima en este grupo.

Por otro lado, una diferencia importante observada en pulmón es la que se presentó en los grupos combinados Vanadio/Uretano 24 h y Uretano 96h/Vanadio, donde la expresión del citocromo aumento en este último. La disminución de la enzima en el grupo Vanadio/Uretano 24 h en comparación con la encontrada en el grupo Uretano 96 h/Vanadio pudiera deberse también al efecto antioxidante de las células club frente al V y a su vez también debido a que la cantidad de uretano que llega al pulmón es mínima debido a que primero llega al hígado por la inyección ip del carcinógeno, por lo que la poca marca de CYP2E1 pudiese no ser detectada por la inmunohistoquímica teniendo baja expresión.

Una vez ya explicado que función pudiera tener este metal en relación con la modulación de CYP2E1 en este modelo un punto que destacar y que pudiera explicar lo reportado por López-Valdez et al., 2021 es ¿Qué papel desempeña el V en la modulación de CYP450 en distintos modelos de anticarcinogénesis? Las CYP450 ejercen un papel crucial en el desarrollo y la progresión del cáncer, la diabetes, las enfermedades cardíacas y la enfermedad de Parkinson (Gangadhariah et al., 2017; Shan et al., 2021). Se sabe que CYP2E1 es la principal enzima que metaboliza una serie de compuestos de bajo peso molecular entre los que destaca, el etanol, acetaminofén, benceno y tetracloruro de carbono, además de procarcinógenos como las nitrosaminas y uretano (Couto et al., 2019; Zhang et al., 2016; Hukkanen et al., 2002).

En el estudio de López-Valdez et al., 2021 se utilizó un modelo de inhalación de V_2O_5 a concentración de 1.56 mg/m^3 para producir adenomas pulmonares a ratones macho por inducción química de uretano en una exposición de 8 semanas. Los hallazgos encontrados fueron que en el grupo Uretano/Vanadio se presentó la disminución en el tamaño y en el número de adenomas que los observados en el grupo uretano, además de mayor índice apoptosis de las células neoplásicas que en las tratadas con el carcinógeno.

Esto podría explicarse con lo encontrado en el presente trabajo de tesis en el mismo grupo Uretano 96 h/V (en ambos protocolos de este mismo grupo se aplicó primero uretano por vía ip y posterior a ello las inhalaciones de V) donde se pudo observar que CYP2E1 aumentó con la combinación de ambos compuestos. El V podría haber inducido el incremento en la expresión de CYP2E1 debido a la elevación de ERO que en combinación con la alta producción de CYPE1 inducida por el uretano potencia la

sobreexpresión de la enzima por lo que en conjunto modificaron la expresión de esta enzima a niveles altos.

El incremento en la expresión de CYP2E1 podría contribuir al efecto antineoplásico de este metal puesto que en el modelo *in vitro e in vivo* de carcinoma hepatocelular realizado por Zhu y colaboradores, 2022 se encontró que la disminución de esta enzima influía en el diámetro tumoral, invasión vascular, diferenciación deficiente y tiempo de supervivencia del paciente más corto que el modelo que poseía la expresión más alta de este citocromo donde se observó a los tumores significativamente más pequeños y livianos (Zhu et al., 2022).

Varios informes han propuesto que la sobreexpresión de CYP2E1 es citotóxica para las células tumorales inhibiendo la rápida proliferación celular (Wu et al., 1999) por lo que un nivel reducido de CYP2E1 podría colocar a las células tumorales en una ventaja y favorecer la progresión de neoplasias. La generación de ERO es un proceso normal en el ciclo de vida celular; sin embargo, cuando se observa aumento en la producción de ERO se puede alterar el metabolismo celular y su regulación, así como daño de las estructuras celulares que conduce al estrés oxidante (Cano-Gutiérrez et al., 2012). De igual modo ya se ha mencionado que tanto CYP2E1 como el V son prooxidantes (Caro et al., 2004; Cano-Gutiérrez et al., 2012). El estrés oxidante originado por el V y a su vez por la activación del citocromo CYP2E1 estaría induciendo la muerte celular de las células cancerígenas en el pulmón ya que las células cancerosas producen niveles más altos de ERO que las células normales debido al aumento del estrés metabólico y la capacidad proliferativa que poseen (Trachootham et al., 2006), pudiendo así explicarse lo encontrado por López-Valdez et al., 2021.

9. Conclusiones

Los resultados obtenidos del efecto de la inhalación de V_2O_5 sobre la expresión de CYP2E1 en el modelo de carcinogénesis inducida por uretano, permite concluir lo siguiente:

- ✓ El V_2O_5 modificó la expresión de CYP2E1 en el modelo de adenomas pulmonares inducidos por uretano, de manera diferencial entre hígado y pulmón.
- ✓ La diferencia en la expresión de CYP2E1 observada en ambos órganos dada por la inhalación de V_2O_5 depende en parte de las defensas antioxidantes que poseen y también de la vía de administración del carcinógeno.
- ✓ En pulmón se presentó una variación del citocromo en los grupos combinados Vanadio/Uretano 24 h y Uretano 96 h/V lo que indica que el tiempo en el que se administra cada compuesto sí hace una diferencia en la modificación de la expresión del CYP2E1.

Los resultados de este estudio demuestran que el V_2O_5 tiene un papel importante en la modificación de la expresión de CYP2E1 encargado de la bioactivación del uretano, lo que puede estar relacionado con el potencial antineoplásico del metal.

10. Perspectivas

En el modelo de adenomas pulmonares inducidos por uretano:

- Analizar el efecto anticarcinógeno del V en la disminución de neoplasias y apoptosis de las células cancerígenas en el grupo V/Uretano respecto al grupo Uretano/V.

En el modelo de carcinogénesis inducida por uretano:

- Medir la expresión de CYP2E1 por Western Blot en el pulmón de ratones expuestos a V.
- Analizar las diferencias por sexo sobre la expresión de CYP2E1 en el pulmón de ratones expuestos a la inhalación de V.
- Analizar el efecto de la inhalación de V en el desarrollo de hepatomas.
- Observar el efecto de la administración oral de V en la expresión de CYP2E1 en el modelo.

11. *Literatura citada*

- Abdelhamid, G., Amara, I. E., Anwar-Mohamed, A., y El-Kadi, A. O. (2013). Modulation of cytochrome P450 1 (Cyp1) by vanadium in hepatic tissue and isolated hepatocyte of C57BL/6 mice. *Archives of Toxicology*, 87, 1531-1543.
- Altamirano-Lozano, M. A., Álvarez-Barrera, L., Mateos-Nava, R. A., Fortoul, T. I., y Rodríguez-Mercado, J. J. (2014). Potential for genotoxic and reprotoxic effects of vanadium compounds due to occupational and environmental exposures: An article based on a presentation at the 8th International Symposium on Vanadium Chemistry, Biological Chemistry, and Toxicology, Washington DC, August 15-18, 2012. *Journal of Immunotoxicology*, 11(1), 19-27.
- Altavilla, G., Caputo, A., Trabanelli, C., Cofano, E. B., Sabbioni, S., Menegatti, M. A., y Corallini, A. (2004). Prevalence of liver tumours in HIV-1 tat-transgenic mice treated with urethane. *European Journal of Cancer*, 40(2), 275-283.
- Anttila, S., Raunio, H., y Hakkola, J. (2011). Cytochrome p450-mediated pulmonary metabolism of carcinogens: regulation and cross-talk in lung carcinogenesis. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 44(5), 583-590.
- Aragón, M. A., Ayala, M. E., Fortoul, T. I., Bizarro, P., y Altamirano-Lozano, M. (2005). Vanadium induced ultrastructural changes and apoptosis in male germ cells. *Reproductive Toxicology*, 20(1), 127-134.
- ATSDR, U. S. (1997). Agency for toxic substances and disease registry. *Case Studies in Environmental Medicine*. [Consulta: 18-07-23]. Recuperado de: <http://www.atsdr.cdc.gov/HEC/CSEM/csem.html>.
- Avila-Costa, M. R., Fortoul, T. I., Niño-Cabrera, G., Colín-Barenque, L., Bizarro-Nevarés, P., Gutiérrez-Valdez, A. L., y Anaya-Martínez, V. (2006). Hippocampal cell alterations induced by the inhalation of vanadium pentoxide (V₂O₅) promote memory deterioration. *Neurotoxicology*, 27(6), 1007-1012.
- Barceloux, D. G., y Barceloux, D. (1999). Vanadium. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 37(2), 265-278.

- Bishayee, A., Waghray, A., Patel, M. A., y Chatterjee, M. (2010). Vanadium in the detection, prevention and treatment of cancer: the in vivo evidence. *Cancer Letters*, 294 (1), 1-12.
- Bishayee, A., Oinam, S., Basu, M., y Chatterjee, M. (2000). Vanadium chemoprevention of 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene-induced rat mammary carcinogenesis: probable involvement of representative hepatic phase I and II xenobiotic metabolizing enzymes. *Breast Cancer Research and Treatment*, 63(1), 133-145.
- Bonola, I. F., Irigoyen, M. E., Vera, L. I., Campero, A., y Hamdan, A. (2014). Estrés oxidante: el sistema enzimático glutatión y la salud bucal. *Ciencias clínicas*, 15(1), 2-8.
- Cano-Gutiérrez, G., Acevedo-Nava, S., Santamaría, A., Altamirano-Lozano, M., Cano-Rodríguez, M. C., y Fortoul, T. I. (2012). Hepatic megalocytosis due to vanadium inhalation: participation of oxidative stress. *Toxicology and Industrial Health*, 28(4), 353-360.
- Caro, A. A., y Cederbaum, A. I. (2004). Oxidative stress, toxicology, and pharmacology of CYP2E1. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology.*, 44, 27-42.
- Caturinia, E. D., Bergeroua, C. C., Godoya, M. L., Puchetaa, N. C., Ribeta, M. E., Crivellib, X. B., y Apreaa, P. I. (2019). Uso de la vía intra-rectal en ratones CF1 para la administración de una combinación de acepromazina y midazolam como premedicación anestésica. *Ciencia Reguladora*, 11-15.
- Chakraborty, T., Chatterjee, A., Rana, A., Dhachinamoorthi, D., Kumar, A., y Chatterjee, M. (2007). Carcinogen-induced early molecular events and its implication in the initiation of chemical hepatocarcinogenesis in rats: Chemopreventive role of vanadium on this process. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1772(1), 48-59.

- Cervantes-Valencia, M. E., González-Villalva, A., Cano-Gutiérrez, G., Albarrán-Alonso, J. C., y Fortoul, T. I. (2021). Effects of vanadium inhalation and sweetened beverage ingestion in mice: morphological and biochemical changes in the liver. *International Journal of Toxicology*, 40(5), 466-474.
- Cisneros, B. E. J. (2001). *La contaminación ambiental en México: causas, efectos y tecnología apropiada* [en línea]. Colegio de Ingenieros Ambientales de México, México. [Consulta 17-01-2023]. Recuperado de: <https://aire.org.mx/wp-content/uploads/2019/10/BIBLIOTECA12.CAUSASCONTAMINACIONAMBIENTAL.pdf>
- Clément-Duchêne, C., Vignaud, J. M., Stoufflet, A., Bertrand, O., Gislard, A., Thiberville, L., y Paris, C. (2010). Characteristics of never smoker lung cancer including environmental and occupational risk factors. *Lung Cancer*, 67(2), 144-150.
- Chang, H., Chang, L. W., Cheng, Y. H., Tsai, W. T., Tsai, M. X., y Lin, P. (2006). Preferential induction of CYP1A1 and CYP1B1 in CCSP-positive cells. *Toxicological Sciences*, 89(1), 205-213.
- Choudhary, D., Jansson, I., Schenkman, J. B., Sarfarazi, M., y Stoilov, I. (2003). Comparative expression profiling of 40 mouse cytochrome P450 genes in embryonic and adult tissues. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 414(1), 91-100.
- Chronopoulou, E., Madesis, P., Asimakopoulou, B., Platis, D., Tsaftaris, A., y Labrou, N. E. (2012). Catalytic and structural diversity of the fluazifop-inducible glutathione transferases from *Phaseolus vulgaris*. *Planta*, 235(6): 1253-1269.
- Cohen, A. J., Brauer, M., Burnett, R., Anderson, H. R., Frostad, J., Estep, K., y Forouzanfar, M. H. (2017). Estimates and 25-year trends of the global burden of disease attributable to ambient air pollution: an analysis of data from the Global Burden of Diseases Study 2015. *The Lancet*, 389(10082), 1907-1918.

- Colín-Barenque, L., Pedraza-Chaverri, J., Medina-Campos, O., Jiménez-Martínez, R., Bizarro-Nevarés, P., González-Villalva, A., y Fortoul, T. I. (2015). Functional and morphological olfactory bulb modifications in mice after vanadium inhalation. *Toxicologic Pathology*, 43(2), 282–291.
- Contreras-Cadena, DA, Gómez-Pech, C., Rangel-García, M., Ruiz-Hernández, A., Martínez-Bulit, P., y Barba-Behrens, N. (2014). La importancia del vanadio en los seres vivos. *Educación Química*, 25, 245–253.
- Couto, N., Al-Majdoub, Z. M., Achour, B., Wright, P. C., Rostami-Hodjegan, A., y Barber, J. (2019). Quantification of proteins involved in drug metabolism and disposition in the human liver using label-free global proteomics. *Molecular Pharmaceutics*, 16 (632–647).
- de la Rosa, L. C., Moshage, H., y Nieto, N. (2008). Hepatocyte oxidant stress and alcoholic liver disease. *Revista española de Enfermedades Digestivas*, 100(3), 156.
- De Montellano, P. R. O., y De Voss, J. J. (2002). Oxidizing species in the mechanism of cytochrome P450. *Natural Product Reports*, 19(4), 477–493.
- Ding, X., y Kaminsky, L. S. (2003). Human extrahepatic cytochromes P450: function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 43(1), 149–173.
- Dobrinskikh, E., Sherlock, LG, Orlicky, DJ, Zheng, L., De Dios, R., Balasubramaniyan, D., y Wright, CJ (2021). El pulmón murino en desarrollo es susceptible a la toxicidad del paracetamol. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 320 (5), L969–L978.
- Dockery, D. W. (1997). An association between air pollution and mortality in six US. *The New England Journal of Medicine*.329, 1238–1249.
- Elinder, C. G., Gerhardsson, L., y Oberdoerster, G. (1988). Biological monitoring of toxic metals-overview. *Biological Monitoring of Toxic Metals*, 1-71.

- Epa, U. S. (2004). Air quality criteria for particulate matter. *US Environmental Protection Agency, Research Triangle Park*.
- Espinosa-Zurutuza, M., González-Villalva, A., Albarrán-Alonso, J. C., Colín-Barenque, L., Bizarro-Nevarés, P., Rojas-Lemus, M., y Fortoul, T. I. (2018). Oxidative stress as a mechanism involved in kidney damage after subchronic exposure to vanadium inhalation and oral sweetened beverages in a mouse model. *International Journal of Toxicology*, 37(1), 45-52.
- Evangelou, A. M. (2002). Vanadium in cancer treatment. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 42(3), 249-265.
- Ferretti, V. A., y León, I. E. (2022). An Overview of Vanadium and Cell Signaling in Potential Cancer Treatments. *Inorganics*, 10(4), 47.
- Forkert, P. G., Kaufmann, M., Black, G., Bowers, R., Chen, H., Collins, K., y Jones, G. (2007). Oxidation of vinyl carbamate and formation of 1, N6-ethenodeoxyadenosine in murine lung. *Drug Metabolism and Disposition*, 35(5), 713-720.
- Forkert, P. G. (1995). CYP2E1 is preferentially expressed in Clara cells of murine lung: localization by in situ hybridization and immunohistochemical methods. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 12(6), 589-596.
- Forkert, P. G. (2010). Mechanisms of lung tumorigenesis by ethyl carbamate and vinyl carbamate. *Drug Metabolism Reviews*, 42(2), 355-378.
- Fortoul, T. I., Gonzalez-Villalva, A., Pinon-Zarate, G., Rodriguez-Lara, V., Montano, L. F., y Saldivar-Osorio, L. (2009). Ultrastructural megakaryocyte modifications after vanadium inhalation in spleen and bone marrow. *Journal of Electron Microscopy*, 58(6), 375-380.

- Fortoul, T. I., Quan-Torres, A., Sánchez, I., López, I. E., Bizarro, P., Mendoza, M. L., y Olaiz-Fernandez, G. (2002). Vanadium in ambient air: Concentrations in lung tissue from autopsies of Mexico City residents in the 1960s and 1990s. *Archives of Environmental Health: An International Journal*, 57(5), 446-449.
- Fortoul, T. I., Rodríguez-Lara, V., González-Villalva, A., Rojas-Lemus, M., Cano-Gutiérrez, G., Ustarroz-Cano, M., y Cervantes-Yépez, S. (2014). Inhalation of vanadium pentoxide and its toxic effects in a mouse model. *Inorganica Chimica Acta*, 420, 8-15.
- Fortoul, T. I., Bizarro-Nevarés, P., Acevedo-Nava, S., Piñón-Zárate, G., Rodríguez-Lara, V., Colín-Barenque, L., y Saldivar-Osorio, L. (2007). Ultrastructural findings in murine seminiferous tubules as a consequence of subchronic vanadium pentoxide inhalation. *Reproductive Toxicology*, 23(4), 588-592.
- Fortoul, T. I., Soto-Mota, A., Rojas-Lemus, M., Rodríguez-Lara, V., González-Villalva, A., Montaña, L. F., y Ustarroz-Cano, M. (2016). Myocardial connexin-43 and N-Cadherin decrease during vanadium inhalation. *Histology and Histopathology*, 31:433-439.
- Fortoul, T. I., Rodríguez-Lara, V., González-Villalva, A., Rojas-Lemus, M., Cano-Gutiérrez, G., Ustarroz-Cano, M., y Muñiz-Rivera-Cambas, A. (2011). Vanadium inhalation in a mouse model for the understanding of air-suspended particle systemic repercussion. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011, 11.
- French, R. J., y Jones, P. J. (1993). Role of vanadium in nutrition: metabolism, essentiality and dietary considerations. *Life Sciences*, 52(4), 339-346.
- Gangadhariah, M. H., Dieckmann, B. W., Lantier, L., Kang, L., Wasserman, D. H., Chiusa, M., y Luther, J. M. (2017). Cytochrome P450 epoxygenase-derived epoxyeicosatrienoic acids contribute to insulin sensitivity in mice and in humans. *Diabetología*, 60, 1066-1075.
- Gartner L.P., y Hiatt J.L. (2008). Capítulo 15: Sistema Respiratorio. En *Texto Atlas de Histología*. Ed. McGraw-Hill Interamericana. México. pp. 345-365.

- Garzón, J. P., Huertas, J. I., Magaña, M., Huertas, M. E., Cárdenas, B., Watanabe, T., y Blanco, S. (2015). Volatile organic compounds in the atmosphere of Mexico City. *Atmospheric Environment*, 119, 415-429.
- Guerrero-Palomo, G., Rendón-Huerta, E. P., Montaña, L. F., y Fortoul, T. I. (2019). Vanadium compounds and cellular death mechanisms in the A549 cell line: The relevance of the compound valence. *Journal of Applied Toxicology*, 39(3), 540-552.
- Ghio, A. J., Stonehuerner, J., Soukup, J. M., Dailey, L. A., Kesic, M. J., y Cohen, M. D. (2015). Iron diminishes the in vitro biological effect of vanadium. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 147, 126-133.
- Guevara-García, J.A. y Scior, T. (2014). La Investigación del Vanadio en la BUAP. Serie Textos Científicos. Primera Edición 2014. Editorial de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. 175 pp.
- Ghanayem, B. I. (2007). Inhibition of urethane-induced carcinogenicity in *cyp2e1*^{-/-} in comparison to *cyp2e1*^{+/+} mice. *Toxicological Sciences*, 95(2), 331-339.
- Goc, A. (2006). Biological activity of vanadium compounds. *Central European Journal of Biology*, 1, 314-332.
- González-Villalva, A., Fortoul, T. I., Ávila-Costa, M. R., Piñón-Zarate, G., Rodríguez-Lara, V., Martínez-Levy, G., y Colin-Barenque, L. (2006). Thrombocytosis induced in mice after subacute and subchronic V₂O₅ inhalation. *Toxicology and Industrial Health*, 22(3), 113-116.
- Gowd, V., Su, H., Karlovsky, P., y Chen, W. (2018). Ethyl carbamate: An emerging food and environmental toxicant. *Food Chemistry*, 248, 312-321.
- Grayson, M. (1983). *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*. Vol 23. 3a ed. John Wiley & Sons. New. York. 688-704.
- Gurley, K. E., Moser, R. D., y Kemp, C. J. (2015). Induction of lung tumors in mice with urethane. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2015(9), pdb-prot077446.

- Hoffler, U., El-Masri, H. A., y Ghanayem, B. I. (2003). Cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) is the principal enzyme responsible for urethane metabolism: comparative studies using CYP2E1-null and wild-type mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 305(2), 557-564.
- Hukkanen, J., Pelkonen, O., Hakkola, J., y Raunio, H. (2002). Expression and Regulation of Xenobiotic-Metabolizing Cytochrome P450 (CYP) Enzymes in Human Lung. *Critical Reviews in Toxicology*, 32(5), 391-411. doi:10.1080/20024091064273.
- Imtiaz, M., Rizwan, MS, Xiong, S., Li, H., Ashraf, M., Shahzad, SM, y Tu, S. (2015). Vanadio, avances recientes y perspectivas de investigación: una revisión. *Medio Ambiente Internacional*, 80, 79-88.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). (2006). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Cobalt in Hard Metals and Cobalt Sulfate, Gallium, Arsenide, Indium Phosphide and Vanadium Pentoxide. Vol. 86.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). (2010). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 2010. Alcohol Consumption and Ethyl Carbamate. Lyon, France. 96: 1281-1307.
- Jaimes-Santoyo, J., de Montesinos-Sampedro, A., Barbosa-Cobos, R. E., Moreno-Mutio, S. G., Rodríguez-Ballesteros, D., Ramos-Cervantes, T., y Beltrán-Ramírez, O. (2014). El Citocromo P-450. *Revista del Hospital Juárez de México*, 81(4), 250-256.
- Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ferlay, J., Ward, E., y Forman, D. (2011). Global cancer statistics. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 61(2), 69-90.
- Jiixin, S., Shengchen, W., Yirong, C., Shuting, W., y Shu, L. (2020). Cadmium exposure induces apoptosis, inflammation and immunosuppression through CYPs activation and antioxidant dysfunction in common carp neutrophils. *Fish and Shellfish Immunology*, 99, 284-290.

- Junqueira LC., y Carneiro J. (2022). *Histología Básica Texto y Atlas*. Edición: 15ª Ed. Panamericana.
- Kanna, P. S., Mahendrakumar, C. B., Chakraborty, T., Hemalatha, P., Banerjee, P., y Chatterjee, M. (2003). Effect of vanadium on colonic aberrant crypt foci induced in rats by 1, 2 dimethyl hydrazine. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 9(5), 1020.
- Kent, U. M., Jushchhyshyn, M. I., y Hollenberg, P. F. (2001). Mechanism-based inactivators as probes of cytochrome P450 structure and function. *Current Drug Metabolism*, 2(3), 215-243.
- Kioseoglou, E., Petanidis, S., Gabriel, C., y Salifoglou, A. (2015). The chemistry and biology of vanadium compounds in cancer therapeutics. *Coordination Chemistry Reviews*, 301, 87-105.
- Kowalski, S., Hać, S., Wyrzykowski, D., Zauszkiewicz-Pawlak, A., y Inkielewicz-Stępniak, I. (2017). Selective cytotoxicity of vanadium complexes on human pancreatic ductal adenocarcinoma cell line by inducing necroptosis, apoptosis and mitotic catastrophe process. *Oncotarget*, 8(36), 60324.
- Kowalski, S., Wyrzykowski, D., y Inkielewicz-Stępniak, I. (2020). Molecular and cellular mechanisms of cytotoxic activity of vanadium compounds against cancer cells. *Molecules*, 25(7), 1757.
- Lee, M. J., y Dinsdale, D. (1995). The subcellular distribution of NADPH-cytochrome P450 reductase and isoenzymes of cytochrome P450 in the lungs of rats and mice. *Biochemical Pharmacology*, 49(10), 1387-1394.
- Li, H., Zhou, D., Zhang, Q., Feng, C., Zheng, W., He, K., y Lan, Y. (2013). Vanadium exposure-induced neurobehavioral alterations among Chinese workers. *Neurotoxicology*, 36, 49-54.
- Li, G., Zhong, Q., Wang, D., y Gao, H. (2017). A survey of ethyl carbamate in beer from Chinese market. *Food Control*, 79, 254-257.

- Liu, J., y Johnston, M. R. (2010). Experimental animal models for studying lung cancer. *Lung Cancer Metastasis: Novel Biological Mechanisms and Impact on Clinical Practice*, 241-265.
- Liu, Z., Zhang, Z., Du, X., Liu, Y., y Zhang, Z. (2023). Formulation of a novel anti-lung cancer drug: Vanadium nanoparticles containing *Salvia officinalis*. *Inorganic Chemistry Communications*, 150, 110520.
- López-Valdez. (2008). *Efecto de la inhalación de pentóxido de vanadio en el modelo de adenomas pulmonares inducidos por uretano: estudio en ratón*. [Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM]. Disponible en: <https://repositorio.unam.mx/contenidos/efecto-de-la-inhalacion-de-pentoxido-de-vanadio-en-el-modelo-de-adenomas-pulmonares-inducidos-por-uretano-estudio-en-ra-462800>
- López-Valdez. (2013). *Mecanismos de la inhibición de crecimiento tumoral en el modelo de adenomas pulmonares inducidos por uretano*. [Tesis de Maestría, Facultad de Ciencias, UNAM]. Disponible en: <https://repositorio.unam.mx/contenidos/mecanismos-de-la-inhibicion-del-crecimiento-tumoral-en-el-modelo-de-adenomas-pulmonares-inducidos-por-uretano-294411?>
- López Valdez, N., Guerrero Palomo, G., Rojas-Lemus, M., Bizarro-Nevarés, P., González-Villalva, A., Ustarroz-Cano, M., y Rivera-Fernández, N. (2020). The role of the non-ciliated bronchiolar cell in tolerance to inhaled vanadium of the bronchiolar epithelium. *Histology Histopathology*, 35, 497-508.
- López-Valdez, N., Rojas-Lemus, M., y Fortoul, T. I. (2021). The Effect of Vanadium Inhalation on the Tumor Progression of Urethane-Induced Lung Adenomas in a Mice Model. *Inorganics*, 9(11), 78.
- Majtnerová, P. y Roušar T. (2018). An overview of apoptosis detecting DNA fragmentation. *Molecular Biology Reports*. 45(5), 1469–1478.

- Manna, S., Das, S., Chatterjee, M., Janarthan, M., y Chatterjee, M. (2011). Combined supplementation of vanadium and fish oil suppresses tumor growth, cell proliferation and induces apoptosis in DMBA-induced rat mammary carcinogenesis. *Journal of Cellular Biochemistry*, 112(9), 2327-2339.
- Mason, R. J., Kalina, M., Nielsen, L. D., Malkinson, A. M., y Shannon, J. M. (2000). Surfactant protein C expression in urethane-induced murine pulmonary tumors. *The American Journal of Pathology*, 156(1), 175-182.
- Mateos-Nava., R A. (2012). *Efecto del pentóxido de vanadio sobre la expresión de las proteínas ciclinas y CDK de la fase G1 en linfocitos humanos tratados in vitro*. [Tesis de Maestría Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM]. Disponible en: <https://repositorio.unam.mx/contenidos/efecto-del-pentoxido-de-vanadio-sobre-la-expresion-de-las-proteinas-ciclinas-y-cdk-de-la-fase-g1-en-linfocitos-humanos-tr-240369>
- Melendez-Garcia, N., Garcia-Ibarra, F., Bizarro-Nevarés, P., Rojas-Lemus, M., Lopez-Valdez, N., González-Villalva, A., y Fortoul, T. I. (2020). Changes in ovarian and uterine morphology and estrous cycle in CD-1 mice after vanadium inhalation. *International Journal of Toxicology*, 39(1), 20-29.
- Meuwissen R. y Berns A. (2005). Mouse models for human lung cancer. *Genes and Development*. 19:643-664.
- Mittal, M., Siddiqui, m. R., Tran, K., Reddy, S. and Malik, A. B. (2014). Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury. *Antioxidants and Redox Signaling*, 20(7), 1126-1167.
- Molina-Alavez, A., Pimentel-Rentería, A., Aldaco-Sarvide, F., Torrecillas-Torres, L., Cortés-Esteban, P., Juárez-Ramiro, A., y Cervantes-Sánchez, M. G. (2008). Prevalencia de cáncer pulmonar y subtipos histológicos en el Centro Médico Nacional" 20 de Noviembre" de 2002 al 2006. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 7(5), 169-174.

- Molina, L. T., Velasco, E., Retama, A., y Zavala, M. (2019). Experience from integrated air quality management in the Mexico City Metropolitan Area and Singapore. *Atmosphere*, 10(9), 512.
- Moore, C. L., Savenka, A. V., y Basnakian, A. G. (2021). TUNEL Assay: A powerful tool for kidney injury evaluation. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(1), 412.
- Narayan, C., y Kumar, A. (2012). Constitutive over expression of IL-1 β , IL-6, NF- κ B, and Stat3 is a potential cause of lung tumorigenesis in urethane (ethyl carbamate) induced Balb/c mice. *Journal of Carcinogenesis*, 11.
- National Toxicology Program. (2000). Report on Carcinogens. 9th ed. National Institute of Environmental Health Sciences, National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC.
- Netter, F. (2019). Atlas of Human Anatomy (7th ed.). Philadelphia, PA: Saunders.
- Nettleship, A., Henshaw, P. S., y Meyer, H. L. (1943). Induction of pulmonary tumors in mice with ethyl carbamate (urethane). *Journal of the National Cancer Institute*, 4, 309-319.
- Nordberg, G.F, Fowler, B.A, Nordberg, M y Friberg, L.T. (2007). Handbook on the Toxicology of Metals, 3rd edition, Elsevier 1-992 pp.
- O'Donnell, E. P., Zerbe, L. K., Dwyer-Nield, L. D., Kisley, L. R., y Malkinson, A. M. (2006). Quantitative analysis of early chemically-induced pulmonary lesions in mice of varying susceptibilities to lung tumorigenesis. *Cancer Letters*, 241(2), 197-202.
- Ortiz, D. M., Carranza, R. C., Ramírez, A. M. D., y Mejía, A. V. (2012). Modulación de la expresión de enzimas del citocromo P450 hepáticas durante las etapas fetal y pediátrica. *Revista de Educación Bioquímica*, 31(2), 60-71.
- Perez, L., y Kuenzli, N. (2010). The Year of the Lung: outdoor air pollution and lung health. *Swiss Medical Weekly*, 140(4546).

- Pilon, A. L., Winn, M. E., Clayton, R. S., y Hariprakasha, H. (2016). Modification of CC10 protein by reactive oxygen species: A novel anti-inflammatory mechanism. In C73. OXIDANTS (pp. A5907-A5907).
- Ramírez, A., Reyes, T., Liberona, L., Bustamente, A., Sáez, C., y Borzone, G. (2007). Metabolismo del glutatión y desarrollo posnatal del pulmón de la rata. *Revista médica de Chile*, 135(7), 896-903.
- Redente, E. F., Orlicky, D. J., Bouchard, R. J., y Malkinson, A. M. (2007). Tumor signaling to the bone marrow changes the phenotype of monocytes and pulmonary macrophages during urethane-induced primary lung tumorigenesis in A/J mice. *The American Journal of Pathology*, 170(2), 693-708.
- Rehder, D. (2003). Biological and medicinal aspects of vanadium. *Inorganic Chemistry Communications*, 6(5), 604-617.
- Renaud, H. J., Cui, J. Y., Khan, M., y Klaassen, C. D. (2011). Tissue distribution and gender-divergent expression of 78 cytochrome P450 mRNAs in mice. *Toxicological sciences*, 124(2), 261-277.
- Reynolds, S. D., y Malkinson, A. M. (2010). Clara cell: progenitor for the bronchiolar epithelium. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 42(1), 1-4.
- Roberts, G. K., Stout, M. D., Sayers, B., Fallacara, D. M., Hejtmancik, M. R., Waidyanatha, S., y Hooth, M. J. (2016). 14-day toxicity studies of tetravalent and pentavalent vanadium compounds in Harlan Sprague Dawley rats and B6C3F1/N mice via drinking water exposure. *Toxicology Reports*, 3, 531-538.
- Rodríguez-Mercado, JJ, y Altamirano-Lozano, MA (2006). Vanadio: contaminación, metabolismo y genotoxicidad. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 22 (4), 173-189.

- Rodríguez-Salazar, M. T., Morton-Bermea, O., Hernández-Álvarez, E., Lozano, R., y Tapia-Cruz, V. (2011). The study of metal contamination in urban topsoils of Mexico City using GIS. *Environmental Earth Sciences*, 62, 899-905.
- Rojas-Lemus, M., López-Valdez, N., Bizarro-Nevarés, P., González-Villalva, A., Ustarroz-Cano, M., Zepeda-Rodríguez, A., y Fortoul, TI (2021). Efectos tóxicos del vanadio inhalado unido a partículas: una revisión de la literatura. *Revista Internacional de Investigación Ambiental y Salud Pública*, 18 (16), 8457.
- Rondini, E. A., Walters, D. M., y Bauer, A. K. (2010). Vanadium pentoxide induces pulmonary inflammation and tumor promotion in a strain-dependent manner. *Particle and Fibre Toxicology*, 7(1), 1-13.
- Ross, M., y Pawlina W. (2007). Histología. Texto Atlas color con Biología Celular y Molecular. 5ed. Editorial Médica Panamericana. pp. 828-893.
- Rozzo, C., Sanna, D., Garribba, E., Serra, M., Cantara, A., Palmieri, G., y Pisano, M. (2017). Antitumoral effect of vanadium compounds in malignant melanoma cell lines. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 174, 14-24.
- Salaman, M. H., y Roe, F. J. C. (1953). Incomplete carcinogens: ethyl carbamate (urethane) as an initiator of skin tumour formation in the mouse. *British Journal of Cancer*, 7(4), 472.
- Samanta, S., Chatterjee, M., Ghosh, B., Rajkumar, M., Rana, A., y Chatterjee, M. (2008). Vanadium and 1, 25 (OH) 2 vitamin D3 combination in inhibitions of 1, 2, dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1780(10), 1106-1114.
- Samanta, S., Swamy, V., Suresh, D., Rajkumar, M., Rana, B., Rana, A., y Chatterjee, M. (2008). Protective effects of vanadium against DMH-induced genotoxicity and carcinogenesis in rat colon: removal of O6-methylguanine DNA adducts, p53 expression, inducible nitric oxide synthase downregulation and apoptotic induction. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 650(2), 123-131.

- Samet, J. M. (2004). Environmental causes of lung cancer: what do we know in 2003? *Chest*, 125(5), 80S-83S.
- Samet, J. M., Avila-Tang, E., Boffetta, P., Hannan, L. M., Olivo-Marston, S., Thun, M. J., y Rudin, C. M. (2009). Lung cancer in never smokers: clinical epidemiology and environmental risk factors. *Clinical Cancer Research*, 15(18), 5626-5645.
- Ścibior, A., Pietrzyk, Ł., Plewa, Z., y Skiba, A. (2020). Vanadium: Risks and possible benefits in the light of a comprehensive overview of its pharmacotoxicological mechanisms and multi-applications with a summary of further research trends. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 61, 126508.
- Secretaria del Medio Ambiente (2011). Proyecto Piloto Retroif en vehículos A Diesel en la Ciudad de México. Contaminación del aire y transporte vehicular en la ZMVM. México. [Consulta 16-01-2023]. Recuperado de: <http://www.sma.df.gob.mx/retrofit>
- Shah, A., Ong, C. E., y Pan, Y. (2021). Unveiling the role of cytochrome P450 (2E1) in human brain specifically in Parkinson's Disease-Literature Review. *Current Drug Metabolism*, 22(9), 698-708.
- Shi, X., Jiang, H., Mao, Y., Ye, J., y Saffiotti, U. (1996). Vanadium (IV)-mediated free radical generation and related 2'-deoxyguanosine hydroxylation and DNA damage. *Toxicology*, 106(1-3), 27-38.
- Sorensen, M., Schins, R. P., Hertel, O., y Loft, S. (2005). Transition metals in personal samples of PM2. 5 and oxidative stress in human volunteers. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 14(5), 1340-1343.
- Sun, S., Schiller, J. H., y Gazdar, A. F. (2007). Lung cancer in never smokers—a different disease. *Nature Reviews Cancer*, 7(10), 778-790.
- Tannenbaum, A. (1964). Contribution of Urethan Studies to the Understanding of Carcinogenesis 1, 2. *Control of Cell Division and the Induction of Cancer*, 14, 341.

- Thompson, H. J., Chasteen, N. D., y Meeker, L. D. (1984). Dietary vanadyl (IV) sulfate inhibits chemically-induced mammary carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 5(6), 849-851.
- Trachootham, D., Zhou, Y., Zhang, H., Demizu, Y., Chen, Z., Pelicano, H., y Huang, P. (2006). Selective killing of oncogenically transformed cells through a ROS-mediated mechanism by β -phenylethyl isothiocyanate. *Cancer Cell*, 10(3), 241-252.
- Treuting, P.M., Dintzis, S.M., y Montine, K. (2018). Upper gastrointestinal tract. In *Comparative Anatomy and Histology (Second Edition)*, A Mouse, Rat, and Human Atlas; Academic Press, Elsevier: London, UK; pp. 190-211.
- Valavanidis, A., Fiotakis, K., y Vlachogianni, T. (2008). Airborne particulate matter and human health: toxicological assessment and importance of size and composition of particles for oxidative damage and carcinogenic mechanisms. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 26(4), 339-362.
- Wu, D., y Cederbaum, A. I. (1999). Ethanol-induced apoptosis to stable HepG2 cell lines expressing human cytochrome P-4502E1. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 23(1), 67-76.
- Xiao, C., Guo, L., Qi, R., y Xi, S. (2007). Effects of air mixed certain pollutants on the expression of CC16 and certain cytokine in pulmonary tissue of rats. *Wei Sheng yan jiu= Journal of Hygiene Research*, 36(6), 679-682.
- Xiao, C., Li, S., Zhou, W., Shang, D., Zhao, S., Zhu, X., y Wang, R. (2013). The effect of air pollutants on the microecology of the respiratory tract of rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 36(2), 588-594.
- Yang, W., y Omaye, S. T. (2009). Air pollutants, oxidative stress and human health. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 674(1-2), 45-54.

- Youlten, D. R., Cramb, S. M., y Baade, P. D. (2008). The International Epidemiology of Lung Cancer: geographical distribution and secular trends. *Journal of Thoracic Oncology*, 3(8), 819-831.
- Zhang, H. F., Wang, H. H., Gao, N., Wei, J. Y., Tian, X., Zhao, Y., y Qiao, H. L. (2016). Physiological content and intrinsic activities of 10 cytochrome P450 isoforms in human normal liver microsomes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 358(1), 83-93.
- Zeng, T., Zhang, C. L., Zhao, N., Guan, M. J., Xiao, M., Yang, R., y Xie, K. Q. (2018). Impairment of Akt activity by CYP2E1 mediated oxidative stress is involved in chronic ethanol-induced fatty liver. *Redox Biology*, 14, 295-304.
- Zhu, L., Yang, X., Feng, J., Mao, J., Zhang, Q., He, M., y Zhang, H. (2022). CYP2E1 plays a suppressive role in hepatocellular carcinoma by regulating Wnt/Dvl2/ β -catenin signaling. *Journal of Translational Medicine*, 20(1), 1-16.
- Zwolak, I. (2016). Comparison of three different cell viability assays for evaluation of vanadyl sulphate cytotoxicity in a Chinese hamster ovary K1 cell line. *Toxicology and Industrial Health*, 32(6), 1013-1025.

12. Anexos

Anexo de soluciones

- **Solución salina fisiológica 0.9 % pH 7.4**

NaCl	9 g
H ₂ O ₂	1000 mL

- **Paraformaldehído 4% pH 7.4**

Solución A

Paraformaldehído	40 g
H ₂ O ₂	500 mL

Preparar la solución en la campana.

Solución B

NaH ₂ PO ₄	2.28 g
Na ₂ HPO ₄	11.5 g
NaCl	0.6 g
H ₂ O ₂	500 mL

Mezclar la solución A y B y ajustar el pH.

- **Solución amortiguadora de fosfato salina (PBS) 10X pH 7.4**

NaCl	80 g
KCl	2 g
Na ₂ HPO ₄ ·7H ₂ O	11.5 g
KH ₂ PO ₄	2 g
H ₂ O ₂	1000 mL

- ***Solución amortiguadora de fosfato salina más Tween (PBST)***

PBS pH 7.4	250 mL
Solución Tween	250 μ L

- ***Solución de recuperación Diva Decloacker***

Solución Diva Decloacker 10X	4 mL
H ₂ O ₂	36 mL

- ***Solución de inhibición de la peroxidasa endógena***

Peróxido de hidrógeno 30 %	3 mL
H ₂ O ₂	100 mL

- ***Solución de bloqueo con albúmina al 2.5 %***

Albúmina	2.5 g
PBST pH 7.4	100 mL

Anexo de presentaciones en eventos académicos y premios

Este trabajo fue presentado en:

Evento: XXXI Foro de Investigación Escolar en Biología ganando el **primer lugar** en la modalidad de **Cartel**.



UNIVERSIDAD
NACIONAL
AUTÓNOMA
DE MÉXICO



Constancia

Que otorga la
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES ZARAGOZA
a través de la Unidad de
Formación Integral

A José Ángel Guadalupe Salgado Hernández, Nelly
López Valdez y Teresa I. Fortoul

Por su participación en la modalidad de **Cartel**, con el trabajo titulado: *“Efecto de la inhalación de vanadio sobre la expresión de CYP2E1 en un modelo murino de carcinogénesis inducida por uretano”*, en el marco del **XXXI Foro de Investigación Escolar en Biología**; llevado a cabo el día 17 de agosto del año en curso.

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad de México, 19 de septiembre del 2023.

3765061671055055125660512

Dr. Vicente Jesús Hernández Abad
Director





UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
CARRERA DE BIOLOGÍA



Otorga el Presente

RECONOCIMIENTO

A: José Ángel Guadalupe Salgado Hernández, Nelly López Valdez y Teresa I. Fortoul.

Por haber obtenido el Primer lugar en la modalidad Cartel, con el trabajo:

“Efecto de la inhalación de vanadio sobre la expresión de CYP2E1 en un modelo murino de carcinogénesis inducida por uretano”.

En el marco de las actividades del:

XXXI FORO DE INVESTIGACIÓN ESCOLAR EN BIOLOGÍA
POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU

Ciudad de México, a 18 de agosto de 2023


M. en C. Maricela Arteaga Mejía
Jefa de la carrera de Biología

